

ZALEŻNOŚĆ POMIĘDZY AKTYWNOŚCIĄ KWAŚNEJ FOSFATAZY W PLEMNIKACH I PLAZMIE NASIENIA A PARAMETRAMI NASIENIA RUTYNOWO OCENIANYMI W DIAGNOSTYCE NIEPŁODNOŚCI MĘSKIEJ

THE RELATIONSHIP BETWEEN ACID PHOSPHATASE ACTIVITY IN THE SPERM CELLS AND SEMEN PLASMA, AND THE PARAMETERS DIRECTLY AFFECT THE FERTILITY

Justyna Klusek¹, Stanisław Głuszek^{1, 2}, Jolanta Klusek³

¹ Zakład Chirurgii i Pielęgniarstwa Chirurgicznego z Pracownią Badań Naukowych Wydział Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach

² Kliniczny Oddział Chirurgii Ogólnej, Onkologicznej i Endokrynologicznej WSZ Kielce Kierownik Zakładu i Oddziału: prof. dr hab. n. med. Stanisław Głuszek

³ Zakład Fizjologii Instytutu Biologii Wydział Matematyczno-Przyrodniczy Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach Kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. biol. Bożena Witek

STRESZCZENIE

W diagnostyce niepłodności u mężczyzn obok oceny parametrów ilościowych i jakościowych plemników stosuje się też ocenę parametrów biochemicznych plazmy nasienia, m.in. aktywności kwaśnej fosfatazy. Enzym ten dominuje wśród enzymów o aktywności fosfohydrolaz w nasieniu i układzie rozrodczym wielu kręgowców, w tym człowieka. Fosfataza kwaśna jest wiarygodnym źródłem informacji na temat funkcji prostaty. Aktywność fosfatazy kwaśnej znacznie wzrasta w przypadku raka prostaty – jest biomarkerem tej choroby. Fosfataza kwaśna odgrywa rolę w przewodzeniu bodźców bólowych. Stężenie fosfatazy kwaśnej spada w nasieniu mężczyzn z przedwczesną ejakulacją. Fosfataza kwaśna bierze prawdopodobnie udział w fosforylacji – defosforylacji białek, przygotowując plemniki do zapłodnienia.

Słowa kluczowe: fosfataza kwaśna, niepłodność, plemniki, badanie nasienia.

SUMMARY

The diagnosis of men infertility in men includes, beside to the assessment of quantitative and qualitative parameters of sperm, also seminal plasma biochemical parameters evaluation, including acid phosphatase activity. This enzyme is the dominant among the enzymes with phosphohydrolases activity in semen and reproductive system of many vertebrates, including humans. Acid phosphatase is reliable source of information about prostate function. Acid phosphatase activity significant increases in case of prostate cancer – it is a biomarker of the disease. Acid phosphatase plays a role in conduction of nociceptive stimuli. Acid phosphatase concentration decreases in semen of men with premature ejaculation. Acid phosphatase is probably involved in protein phosphorylation – dephosphorylation processes, preparing sperm cells to fertilization.

Key words: acid phosphatase, infertility, sperm cells, semen analysis.

Zrozumienie molekularnych mechanizmów leżących u podstaw niepłodności przyczynia się do usprawnienia stosowanych technik porodu wspomaganego (z ang. ART – *Assisted Reproductive Techniques*). W diagnostyce niepłodności u mężczyzn rutynowo są dziś oceniane parametry ilościowe i jakościowe plemników w badaniu podstawowym nasienia (tabela 1), ale stosuje się też jako badanie dodatkowe ocenę parametrów biochemicznych plazmy nasienia,

m.in. zawartości fruktozy, cynku czy aktywności kwaśnej fosfatazy (tabela 2).

Plazma nasienia jest wieloskładnikową mieszaniną stwarzającą plemnikom optymalne środowisko podczas ich wędrówki przez drogi rodne kobiety. Dla prawidłowego zapłodnienia obok jakości plemników w ejakulacie nie mniej ważny jest odpowiedni skład plazmy nasienia. Posiada ona właściwości buforujące, zapewniając zasadowe pH (7,2–8,0) otoczenia

Tabela 1. Wartości referencyjne dla ocenianych parametrów nasienia wg WHO 2010 [1]

Oceniany parametr	Norma
Objętość ejakulatu	$\geq 1,5$ ml
Czas upłynięcia nasienia	≤ 60 min
pH	$\geq 7,2$
Koncentracja plemników	$\geq 15 \times 10^6$ /ml
Całkowita liczba plemników w ejakulacie	$\geq 39 \times 10^6$
Ruch postępowy plemników	$> 32\%$
Ruch postępowy i niepostępowy łącznie	$\geq 40\%$
Żywotność plemników	$\geq 58\%$
Plemniki o prawidłowej morfologii	$\geq 4\%$
Liczba komórek okrągłych	$< 5 \times 10^6$ /ml
Obecność leukocytów	$< 1 \times 10^6$ /ml

Tabela 2. Wartości referencyjne dla niektórych składników plazmy nasienia wg WHO 2010 [1], wartość dla kwaśnej fosfatazy – wg danych Semczuka [2]

Składniki chemiczne plazmy nasienia	Norma
Zawartość cynku w ejakulacie	$\geq 2,4$ μ mol [1]
Zawartość fruktozy w ejakulacie	≥ 13 μ mol [1]
Aktywność obojętnej α -glukozydazy	≥ 20 mU [1]
Aktywność kwaśnej fosfatazy	≥ 200 U [2]

plemników, chroniące przed kwaśnym środowiskiem pochwy, a także m.in. wysoką zawartość fruktozy jako głównego składnika odżywiającego plemniki (tabela 2) [1, 2, 3]. Substancje zawarte w ejakulacie pochodzą z dodatkowych gruczołów wydzielniczych męskiego układu rozrodczego, takich jak gruczoł krokowy, pęcherzyki nasienne czy najądrza. Stąd na podstawie zawartości poszczególnych składników w nasieniu można oceniać zdolności wydzielnicze tych gruczołów. Na przykład pomiar fruktozy i prostaglandyn służy określeniu sekrecji pęcherzyków nasiennych, L-karnityna czy obojętne α -glukozydaza są markerami dla najądrzy, a zawartość cynku, kwasu cytrynowego czy kwaśnej fosfatazy jest wiarygodnym źródłem informacji na temat funkcjonowania prostaty [1]. Plazma nasienia człowieka jest płynem szczególnie bogatym w białka (ich zawartość waha się u człowieka w granicach 35–55 g/l, w porównaniu do halibuta atlantyckiego ok. 6–19 g/l [4]), dzięki którym nasienie koaguluje tuż po ejakulacji [2]. Enzymy proteolityczne pochodzące głównie z gruczołu krokowego powodują z kolei upłynięcie skoagulowanego nasienia, umożliwiając ruch plemników i ich wniknięcie do dróg rodnych kobiety [3]. Plazmie nasienia przypisuje się ogromne znaczenie w metabolizmie męskich komórek płciowych, ich przeżyciu i transporcie przez żeńskie drogi rodne [5]. Jej nieprawidłowy skład może być jedną z przyczyn słabej jakości nasienia i plemników. Stąd uzupełniające

badania obejmują analizę zdolności wydzielniczych gruczołów dodatkowych poprzez pomiar substancji wskaźnikowych uwidocznionych w tabeli 2 [1].

Fosfataza kwaśna dominuje wśród enzymów o aktywności fosfohydrolaz w nasieniu i układzie rozrodczym nie tylko ssaków, lecz także ptaków i ryb [6]. Stwierdzono jednak pewne różnice dotyczące tej hydrolazy pomiędzy poszczególnymi gatunkami. W nasieniu dzika na przykład obserwuje się cztery różne formy molekularne tego enzymu o zróżnicowanym pochodzeniu: z wydzieliny najądrzy, gruczołu krokowego i z płynu pęcherzykowego. Przeważająca ilość AcP pochodząca z najądrzy (3 różne formy) towarzyszy plemnikom w dojrzewaniu w układzie rozrodczym męskim, natomiast z fosfatazą pęcherzykową plemniki mają kontakt dopiero po ejakulacji [7, 8]. U kaczora głównym źródłem AcP są z kolei jądra [6]. W plazmie nasienia człowieka fosfataza kwaśna pochodzi głównie z wydzieliny komórek nabłonkowych prostaty (PAP – z ang. *Prostatic Acid Phosphatase*) [7, 9]. Ta wydzielnicza forma enzymu zaczyna się pojawiać w prostacie u chłopców dopiero w fazie dojrzewania płciowego. Produkowana przez gruczoł krokowy w największym stężeniu fosfataza kwaśna pojawia się w plazmie nasienia (ok. 1 mg/ml), a w znacznie mniejszym stężeniu (1–3 ng/ml) w osoczu zdrowych mężczyzn. Koncentracja tego enzymu w osoczu wzrasta jednak znacznie w przypadkach raka prostaty, stąd od długiego już czasu poziom osoczowej PAP służy w diagnostyce jako biomarker tego rodzaju nowotworu. Okazuje się jednak, że chociaż prostata jest głównym miejscem ekspresji genów dla PAP, to w mniejszym stopniu biosynteza tego białka zachodzi również w innych tkankach organizmu. Stwierdzono niewielkie ilości PAP wytwarzanej m.in. w gruczołach sutkowych, śliniankach, skórze czy komórkach wysp trzustkowych [10].

Fizjologiczna funkcja kwaśnej fosfatazy, pomimo licznych badań prowadzonych od lat trzydziestych XX wieku, nie została jak dotąd w pełni poznana. Niedawno odkryto obecność tego enzymu w nocycyptywnych neuronach zwojowych, w związku z czym trwają badania nad rolą PAP w przewodzeniu bodźców bólowych. Prawdopodobnie PAP może bowiem funkcjonować również jako ektonukleotyda zdolna do wytwarzania wolnych adenzyn z pozakomórkowego AMP (adenozynomonofosforan) [9]. W tym kontekście pojawia się przypuszczenie, że PAP może brać udział w procesach fizjologicznych zależnych od adenzyny, w tym w hamowaniu sygnałów nocycyptywnych. W badaniu na myszach okazało się, że delecja genu dla PAP podwyższa wrażliwość osobników na chroniczny ból, co wynika z braku przeciwbólowego działania enzymu przejawiającego się generowaniem adenzyn jako naturalnych związków analgetycznych

u ssaków [11]. Inną rolę przypisywaną fosfatazie PAP jest udział w prawidłowym przebiegu ejakulacji u mężczyzn. Zaobserwowano bowiem istotne statystycznie obniżenie poziomu tego enzymu w nasieniu u pacjentów cierpiących na przedwczesną ejakulację [12].

Uważa się, że enzymy plazmy nasienia pełnią istotne funkcje w pozajądrowym dojrzewaniu plemników. Wykazano na przykład znaczenie kwaśnej fosfatazy i czynnika aktywującego płytki (z ang. PAF – *Platelets Activating Factor*) w modulowaniu fizjologii plemników.

Kwaśna fosfataza jest zaangażowana w cykl fosforylacji–defosforylacji białek towarzyszący przygotowaniu plemników do zapłodnienia [7]. Szczególnie istotna jest tu AcP zlokalizowana w błonie komórkowej plemników. U ssaków prawdopodobnie właśnie ta błonowa forma enzymu odgrywa rolę w przemianie proakrosyny do akrosyny oraz samej reakcji akrosomowej umożliwiającej zapłodnienie komórki jajowej [6]. Właściwy poziom akrosyny może stanowić wiarygodny wskaźnik jakości nasienia, obserwuje się bowiem wyraźne różnice w parametrach ejakulatów o normalnej aktywności akrosyny (42,8–218,7 $\mu\text{IU}/10^6$ plemników), w porównaniu do próbek nasienia o obniżonej aktywności akrosyny (< 42,8 $\mu\text{IU}/10^6$ plemników). Zmiany te dotyczą m.in. koncentracji plemników, ich ruchliwości i żywotności. Jednak pomimo doniesień innych autorów na temat przypuszczalnej roli AcP w aktywacji akrosyny z proenzymu, w badaniu zależności pomiędzy jakością nasienia a aktywnością akrosyny w plemnikach nie zauważono zmian poziomu kwaśnej fosfatazy wraz z obniżeniem aktywności akrosyny [13].

Chociaż badania związku pomiędzy aktywnością AcP w plemnikach i plazmie nasienia, płodnością mężczyzn prowadzone są od wielu lat, to uzyskiwane wyniki są wciąż niezadowolające, czasem nawet sprzeczne. Na przykład w badaniu z 1947 roku dotyczącym poziomu kwaśnej fosfatazy w nasieniu niepłodnych mężczyzn nie stwierdzono zależności pomiędzy aktywnością tego enzymu a koncentracją plemników w nasieniu ani ich ruchliwością [14]. Natomiast ostatnio (październik 2011 roku) w badaniu prowadzonym na mężczyznach z żyłakami powrózka nasiennego z grupą kontrolną w postaci mężczyzn ze stwierdzoną normozoospermia zauważono dodatnią korelację pomiędzy stężeniem fruktozy i kwaśnej fosfatazy w plazmie nasienia a objętością ejakulatu i koncentracją plemników w nasieniu [15]. Również w badaniu nasienia ogierów zauważono m.in. zależność pomiędzy poziomem kwaśnej fosfatazy a objętością ejakulatu i koncentracją plemników [5]. Z kolei Fang i współpracownicy nie stwierdzili zależności pomiędzy aktywnością AcP w plazmie nasienia

a koncentracją plemników ani objętością nasienia, natomiast zaobserwowali wyraźną dodatnią korelację pomiędzy aktywnością tego enzymu a pH ejakulatu [16]. W kolejnym badaniu, porównującym parametry nasienia mężczyzn o potwierdzonej płodności i niepłodnych, stwierdzono istotne statystycznie obniżenie poziomu kwaśnej fosfatazy w nasieniu mężczyzn niepłodnych, z czym wiązała się zmniejszona żywotność i koncentracja plemników. Różnice były tak wyraźne, że zaproponowano oznaczanie aktywności AcP jako jednego z markerów diagnostycznych niepłodności męskiej [17].

Podsumowując:

1. Fosfataza kwaśna dominuje wśród czynników o aktywności fosfohydrolaz w nasieniu.
2. Fosfataza kwaśna jest wiarygodnym źródłem informacji na temat funkcji prostaty.
3. Aktywność fosfatazy kwaśnej znacznie wzrasta w przypadkach raka prostaty – jest biomarkerem tej choroby.
4. Fosfataza kwaśna odgrywa rolę w przewodzeniu bodźców bólowych.
5. Stężenie fosfatazy kwaśnej spada w nasieniu mężczyzn z przedwczesną ejakulacją.
6. Fosfataza kwaśna bierze prawdopodobnie udział w fosforylacji–defosforylacji białek, przygotowując w ten sposób plemniki do zapłodnienia.
7. Aktywność fosfatazy kwaśnej obniża się w przypadkach zmniejszonej żywotności i małej koncentracji plemników.

PIŚMIENNICTWO

- [1] WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen – 5th ed, WHO Press, Switzerland 2010; 1–271.
- [2] Semczuk M, Kurpisz M. Andrologia. Wyd II uaktualnione. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2006.
- [3] Pilch B, Mann M. Large-scale and high-confidence proteomic analysis of human seminal plasma. *Gen Biol* 2006; 7: 40.
- [4] Mommens M, Wojtczak M, Ciereszko A et al. Seminal plasma proteins of Atlantic Halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.), *Fish Physiol Biochem* 2008; 34: 349–355.
- [5] Pesch S, Bergmann M, Bostedt H. Determination of some enzymes and macro- and microelements in stalli on seminal plasma and their correlations to semen quality. *Theriogenology* 2006; 2: 307–313.
- [6] Dżugan M, Birek A. Zmienność fosfataz w układzie rozrodczym samców niektórych gatunków ptaków domowych. *Zeszyty Naukowe Połud-*

niowo-Wschodniego Oddziału Polskiego Towarzystwa Inżynierii Ekologicznej 2009; 11: 43–48.

[7] Fraser L, Wysocki P, Ciereszko A et al. Application of biochemical markers for identification of biological properties of animals semen. *Reprod Biol* 2006; 1: 5–20.

[8] Wysocki P, Strzeżek J. Isolation and biochemical characteristics of a molecular form of epididymal acid phosphatase of boar seminal plasma. *Theriogenology* 2006; 9: 2152–2159.

[9] Zimmermann H. Prostatic acid phosphatase, a neglected ectonucleotidase, *Purinergic Signalling* 2009; 5: 273–275.

[10] Graddis T, McMahan C, Tamman J et al. Prostatic acid phosphatase expression in human tissues. *Int J Clin Exp Pathol* 2011; 4: 295–306.

[11] Zylka M, Sowa N, Taylor-Blake B et al. Prostatic acid phosphatase is an ectonucleotidase and suppresses pain by generating adenosine. *Neuron* 2008; 60: 111–122.

[12] Bing Y, Xi-Ling L, Zhi-Ming Z. Semen biochemical markers and their significance in the pa-

tients with premature ejaculation, *Nat J Androl* 2007; 12: 1084–1086.

[13] Shu-Ping X, Bao-E Z. Analysis of relationship between semen quality and sperm acrosin activity. *Nat J Androl* 2006; 5: 438–440.

[14] Delory G. Seminal fluid acid phosphatase in sterility. *BMJ* 1947; 5: 566–567.

[15] Vivas-Acevedo G, Lozano-Hernandez R, Camejo M. Markers of accessory sex glands function in men with varicocele, relationship with seminal parameters. *Can J Urol* 2011; 5: 5884–5889.

[16] Fang C, Jin-Chun L, Hui-Ru X. Evaluation of the determination of seminal AcP and gamma-GT activities and correlation between seminal AcP or gamma-GT activity and semen parameters. *Nat J Androl* 2006; 10: 879–882.

[17] Wang R, Wei-Xing Z, Tao Z et al. Analyse of zinc and acid phosphatase in seminal plasma and sperm parameters of infertile male. *Nat J Androl* 2006; 1: 36–38.

Adres do korespondencji:

dr n. biol. Justyna Klusek
Wydział Nauk o Zdrowiu UJK
25-317 Kielce, al. IX Wieków Kielc 19
e-mail: justynaklusek@tlen.pl
tel. +48 608 200 830