

## Akrozom reaksiyonu

Doç. Dr. Barış Altay

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji AD

Akrozom spermatogenez sırasında, Golgi cisimciğinden köken alan, spermatozoanın plazma membranında bulunan yapıdır. Sperm baş kısmının 2/3'lük kısmını oluşturur; akrozin ve hyaluronidaz enzimleri içerir. Sperm kapasitasyon yeteneğini kazandıktan sonra zona pellucida penetrasyonunu gerçekleştirmesi için öncelikle akrozom reaksiyonunun indüklenmesi gerekir. Spermin zona pellucidaya bağlanması sırasında sperm başındaki spesifik reseptörler aktive olarak eksozitoz gerçekleşir. Plazma membranı dış akrozomal membran ile birleşince akrozomal içerik ortaya çıkar. Normal fertil erkekte bu reaksiyon % 10'un altında spontan gerçekleşir. Bu işlem uyarana ve türlere göre değişmekle birlikte ortalama 1-3 dakika sürer. İnsanda spermatozoa folliküler sıvı ile karşılaşınca akrozom reaksiyonu (AR) saniyeler içinde başlar ve füzyonun gerçekleştiği odak akrozomun apeks kısmındadır. Akrozomsuz round-spermatid zona pellucida (ZP) veya oolemmaya bağlanamaz. Yine küçük veya anormal akrozom yapısına sahip ve bunun dışında normal morfolojiye sahip spermin de bağlanma yeteneği oldukça düşüktür.

Akrozom reaksiyonunu indüklenmesi:

1. Sperm yıkama teknikleri
2. Folliküler sıvı
3. Kalsiyum iyonofor A23187
4. Progesteron
5. Zona pellucida glikoproteinler
6. Bovin serum albumin

İnsanda folliküler sıvı sperm hareketlerinin kazanılmasında düzenleyici rol oynar ve akrozom reaksiyonunu tetikler. Genital trakt boyunca spermin folliküler sıvı ile teması sonrası progesteron etkin rol oynar. Ancak bunun dışında birden fazla mekanizma reaksiyonda etkilidir. GABA 2 farklı tipte reseptör (GABAA-b) ile klor ve kalsiyum iyon transportu ile AR'nunu uyarır. Diğer taraftan GABAA-b reseptör antagonistleri ise AR inhibisyonunu sağlar. GABAA reseptör antagonisti "biculline" ve GABAb res. antagonisti "saclofen" ile yapılan çalışmalarda folliküler sıvı ile

indüklenen AR inhibisyonu sağlanmıştır. Progesteron da GABA reseptörler yoluyla AR'de etkili olur. Kalsiyumun hücre içi alımında sperm plazma membranında yerleşik ekstra-genomik progesteron reseptörleri rol oynar (1).

İntraselüler Ca artışı AR'de anahtar gelişimdir. Mitokondria, nükleus ve sitoplazmik droplet Ca kaynaklarıdır. Kalsiyum iyonofor A23187 ile AR indüksiyonu sağlanır. Fertilizasyon oranının düşük saptandığı teratozoospermik olgularda reaksiyona giren akrozom oranı da belirgin olarak düşüktür (2). Aktin filamanları akrozomal boşluk, ekvotoral ve postakrozomal bölgede yer alır. Aktin polimerizasyonuna bağlı ZP ile indüklenen AR gerçekleşir. Sperm protein tirozin fosforilasyonu HCO<sub>3</sub> adenil siklazı uyararak cAMP düzeyini artırır, kadın genital traktındaki EGF, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve sodyum vanadate ile gerçekleşir ve aktin polimerizasyonunu sağlayarak AR indüksiyonu yapar (3). Ca<sup>2+</sup>-ATPaz inhibitörü olan Thapsigargin akrozomal bölgede bağlanarak intraselüler Ca<sup>2+</sup> artışı sağlar ve fosfotirozin içeriğini arttırarak tirozin fosforilasyonu ile akrozomal eksozitozu sağlar (4).

Liu tarafından normal fertil kişilerde ortalama % 14 motil sperm ZP'ya bağlanırken, normozoospermik infertil erkeklerde bu oran % 4 civarında tanımlanmıştır. Kapasitasyon şartlarına göre sperm-aktin birlikteliği var olduğundan, bu amaçla sperm başına aktin bağlanma oranına yönelik çalışmalarda fertilizasyonun doğru orantılı olarak arttığı saptanmıştır (5).

Haprin ise aktin filamanları ve SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor) yardımıyla AR sırasında membran füzyonu sürecinde rol oynayan proteindir. Testiste geç spermatogenez döneminde belirir (6). Serbest oksijen radikalleri (süreoksid anyon, hidroksil radikal ve hidrojen peroksid) düşük konsantrasyonda AR'nunu indüklerken, yüksek konsantrasyonda ROS AR üzerine olumsuz etkilidir (7). Enfeksiyon açısından yapılan çalışmalarda ise IgA antikorları ile Klamidya enfeksiyonu saptanan hastalar ile Klamidya negatif hastalar ve sağlıklı ki-

şiler arasında AR açısından (Ca iyonofor A23187) yapılan çalışmada AR ile Klamidya spesifik IgA oranları arasında negatif korelasyon saptanmıştır (8). Prostazom prostat bezinden salgılanan, kolesterol/lipid fosfor oranı çok yüksek partiküllerdir. Kadın genital traktı boyunca pH 5-5.5 arası ortamda AR düzenlenmesinde görev alır. Prostazomla H<sup>+</sup> bağımlı füzyon, spermatozoanın AR indüksiyonunda Progesteronu daha etkin hale getirir (9).

AR sırasında cumulus matrix'de rol alan hyalüronik asit, spermatozoada intraselüler Ca artışı sağlar. Böylece spermatozoa cumulus veya zona pellucida içeriği ile karşılaşınca AR'e daha duyarlı hale gelir. Tam aksine Glycodelin-F, cumulus matrixden salgılanan protein, de progesteron-bağımlı AR inhibisyonu sağlar. Bu şekilde istenmeyen pre-matür AR'nu engeller. Foliküler sıvı ve cumulus matrixden salgılanan ZIF-1 (Zona binding inhibitory factor) de glycodeilin gibi pre-matür AR'nu engeller (10). Deneysel olarak da Crohn hastalığı tedavisinde kullanılan sülfosalazin ile yapılan deneysel çalışmalarda akrozomal membranda yer alan CD59 geninin PCR ile yapılan çalışmalarda belirgin şekilde azaldığı gösterilmiştir, dolayısıyla sülfosalazine bağlı erkek infertilite sorunları ortaya konmuştur. (11).

AR monitorizasyonunda

1. Triple-stain
2. Monoklonal antikolar: Akrozomal komponenta karşı kullanılır
3. Florösan lectin (peanut agglütinin): Dış akrozomal membranı görüntülemeye yararlıdır
4. Pisum sativum aglütinin: Akrozomal matriksi belirlemede yardımcıdır

FITC-PSA (Double-fluoresence) ile birlikte akrozomal kaybı değerlendirmede en güvenilir tekniktir. Ayrıca uzun süre saklanabilir, çok zaman gerektirmez ve daha az donanımlı laboratuarlarda rahatlıkla uygulanabilir. Akrozom ile beraber sperm morfolojisi de değerlendirilebilir.

Akrozom reaksiyonun olmaması:

1. Uygunsuz sperm kapasitasyonu
2. Zona pellucidaya bağlandıktan sonra sperm membranında gerekli yapısal-fonksiyonel değişikliklerin ger-

çekleşmemesi

3. Zona pellucida kapasitesinde AR indüksiyonunda yetersizlik şeklinde değerlendirilir.

Üremeye yardımcı tekniklerin başarısını belirlemede akrozom testi

**\*ARIC (Acrosome reaction ion challenge test):**

AR yetersizliği: İyonofor ile indüklenen ve indüklenmeyen AR sperm farkı < %15 ise

AR prematüresi: Spontan AR > %20 ( WHO 1999)

Her iki patoloji de bir hastada beraber gözlenebilir.

**\*ZIAR (Zona pellucida induced acrosome reaction test)**

ZIAR > %15 ise fertilizasyon oranları belirgin yüksek olduğu için; ZIAR testinin IVF-ICSI seçiminde kullanılabilir bir test olduğu vurgulanmaktadır(12). Normal semen parametrelerine rağmen IVF başarısızlığını ZIAR % 90 oranında belirlemektedir (13).

**\*Ca iyonofor ile indüklenen AR test**

Fertilizasyon başarısızlıklarını belirlemede önem taşır. Ancak bu test fizyolojik AR'dan farklı olarak kimyasal etki ile Ca artışı sağlar ve bazı sinyal-ileti sistemlerini atlayarak etkisini gösterir. Bu nedenle düşük doz iyonofor ile indüklenen AR doğala daha yakın benzerlik gösterir(14).

**\*Mannoz Ligand Test**

Periakrozomal plazma membranında ki mannoz reseptörleri ile zona pellucidadaki mannoz ligandları aracılığıyla sperm-ZP arası ilişki değerlendirilmektedir. Mannoz ile indüklenen AR ile akrozomal ekzositoz artışı beraberinde IVF başarısını göstermektedir (15).

**\*Akrozim Test**

Sperm spesifik tripsin benzeri akrozomal proteinaz yapıcıdır. Bu enzim sistemi spermatozoanın ZP içine girmesine yardımcı olur. Non-zimojen formdaki akrozim proakrozimin aktivasyonunu başlatır. Açıklanamayan infertil erkeklerde proakrozim formda akrozim oranı kontrol grubuna göre belirgin olarak düşüktür (16).

## Kaynaklar:

1. Burello N, Vicari E, D'Amico L, Sata A, D'Agata R, Calogero A. Human follicular fluid stimulates the sperm acrosome reaction by interacting with the GABA receptors. *Fertil Steril* 2004 Oct; 82(3): 1086-90.
2. Liu DY, Baker HW. Calcium ionophore-induced acrosome reaction correlates with fertilization rates in vitro in patients with teratozoospermic men. *Hum Reprod* 1998 ; 13(4): 905-10.
3. Brener E, Rubinstein S, Cohen G, Shternall K, Rivlin J, Breitbart H. Remodeling of the actin cytoskeleton during mammalian sperm capacitation. *Biology of Reproduction* 2002 Oct; (68): 837-45.
4. Dorval V, Dufour M, Leclerc P. Role of tyrosine phosphorylation in the thapsigargin-induced intracellular Ca store depletion during human sperm acrosome reaction. *Mol Hum Reprod* 2003; (9): 125-31.
5. Liu DY, Clarke GN, Baker HW. Exposure of actin on the surface of the human sperm head during in vitro culture relates to sperm morphology, capacitation and zona binding. *Hum Reprod* 2005 Jan; 20(4): 999-1005.
6. Kitamura K, Tanka H, Nishimune Y. Haprin, a novel haploid germ cell-specific RING finger protein involved in the acrosome reaction. *J Biol Chem* 2003 Nov; 278(5): 44417-44423.
7. Ichikawa T, Oeda T, Ohmori H, Schill WB. Reactive oxygen species influence the acrosome reaction but not acrosin activity in human spermatozoa. *Int J Androl* 1999; 22: 37-42.
8. Jungwirth A, Straberger A, Esterbauer B, Fink K, Schmeller N. Acrosome reaction in chlamydia-positive and negative patients. *Andrologia* 2003; 35: 314-6.
9. Palmerini CA, Saccardi C, Carlini E, Fabiani R, Arienti G. Fusion of prostasomes to human spermatozoa stimulates the acrosome reaction. *Fertil Steril* 2003 Nov; 80(5): 1181-4.
10. Chiu P, Koistinen H, Koistinen H, Seppala M, Lee KF, Yeung WSB. Binding of zona binding inhibitory factor-1 (ZIF-1) from human follicular fluid on spermatozoa. *J Biol Chem* 2003 April, 278(15): 13570-7.
11. Fukushima T, Kato M, Adachi T, Hamada Y, Horimoto M, Komiyama M, Mori C, Horii I. Effects of sulfasalazine on sperm acrosome reaction and gene expression in the male reproductive organs of rats. *Toxicol Science* 2005; 85: 675-82.
12. Esterhuizen AD, Franken DR, Lourens JGH, van Rooyen LH. Clinical importance of zona pellucida-induced acrosome reaction and its predictive value for IVF. *Hum Reprod* 2001;16(1): 138-44.
13. Bastiaan HS, Windt ML, Menkveld R, Kruger TF, Oehninger MD, Franken DR. Relationship between zona pellucida-induced acrosome reaction, sperm morphology, sperm-zona pellucida binding, and in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003 Jan; 79(1): 49-55.
14. Katsuki T, Hara T, Ueda K, Tanaka J, Ohama K. Prediction of assisted reproduction treatment using the calcium ionophore-induced acrosome reaction. *Hum Reprod* 2005; 20(2): 469-75.
15. Benoff S, Hurley IR, Mandel FS, Paine T, Jacob A, Cooper GW, Hershlag A. Use of mannose ligands in IVF screens to mimic zona pellucida-induced acrosome reactions and predict fertilization success. *Mol Hum Reprod* 1997; 3(10): 839-46.
16. Chaudhury K, Das T, Chakravarty B, Bhattacharyya AK. Acrosin activity as a potential marker for sperm membrane characteristics in unexplained male infertility. *Fertil Steril* 2005; 83(1): 104-9.