



## ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΩΑΡΙΟΥ

- Γαμετογένεση
- Φυσιολογία σπερματογένεσης
- Φυσιολογία ωογένεσης
- Διαδικασία γονιμοποίησης
- Αποτελέσματα της γονιμοποίησης
- Διαιρεση του γονιμοποιημένου ωαρίου
- Εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου
- Περίληψη
- Βιβλιογραφία

Το σπερματοζωάριο και το ωάριο είναι υψηλά εξειδικευμένα απλοειδικά κύτταρα, τα οποία σχηματίζονται διαμέσου μιας πολύπλοκης διαδικασίας κυτταρικής διαρροής που περιλαμβάνει τα στάδια διαφοροποίησης, ωρίμανσης και καλείται γαμετογένεση (Εικ. 1-1).

Στα θηλαστικά, η ιστορία της ζωής των πρωτογενών γεννητικών κυττάρων αρχίζει στην εμβρυονική ζωή με την εξωγοναδική εμφάνιση των αρχέγονων γεννητικών κυττάρων και την αποίκηση των γενετικών πτυχών, όπου τα γεννητικά κύτταρα έρχονται σε επαφή με τα σωματικά κύτταρα, συνεχίζει με τον πολλαπλασιασμό, την αύξηση και ωρίμανση και τελειώνει με τη γονιμοποίηση.

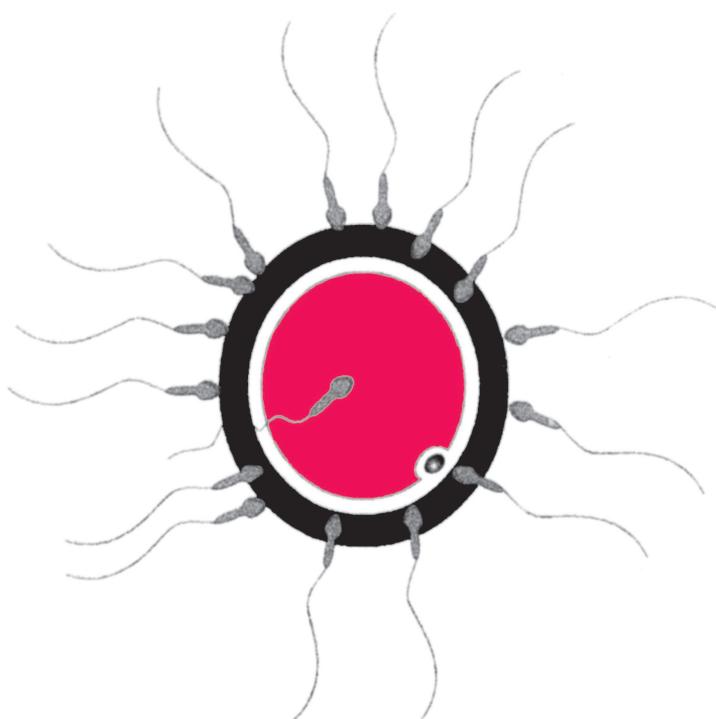
Το ωοκύτταρο υφίσταται μια ταχύτατη αύξηση και συσσωρεύει ένα μεγάλο ποσόν μακρομορίων.

Σε αντίθεση, το σπερματοζωάριο έχει μια εξαιρετική υδροδυναμική γραμμή, υψηλή εξειδίκευση των οργανιδίων, που περιέχουν μόνο στοιχεία για ουσιώδεις λειπουργίες, όπως η κινητικότητα και λίγα σημαντικά έννυμα για να εξασφαλίσουν αποτελεσματική μεταφορά του πατρικού γενώματος στο ωοκύτταρο κατά τη γονιμοποίηση.

Η συνένωση του σπερματοζωαρίου και του ωαρίου είναι ένα ασυνήθιστο γεγονός κυτταρικής συνένωσης, αποτελεί την αρχική ανάπτυξη του εμβρύου και το κύτταρο που σχηματίζεται είναι η αρχή της ανθρώπινης ύπαρξης.

### EIKONA 1-1

Διείσδυση του σπερματοζωαρίου στο ωάριο.



## ΓΑΜΕΤΟΓΕΝΕΣΗ

Στο στάδιο του σπερματογονίου και ωογονίου, τα πρωτογενή γεννητικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται με μίτωση και στη συνέχεια υψίστανται μείωση μέχρι να γίνουν πλήρως ώριμοι γαμέτες. Η μείωση περιλαμβάνει δύο συνεχείς διαιρέσεις με ένα μόνο αναδιπλασιασμό του DNA και καταλήγει στην παραγωγή απλοειδικών γαμετών. Τα ζεύγη των ομόλογων χρωμοσωμάτων είναι μοναδικά στη μείωση.

Η πρώτη μειωτική διαιρέση ενισχύει τη γενετική πολυπλοκότητα με ανεξάρτητο συνδυασμό, μέσω των διαφόρων μητρικών ομολόγων χρωμοσωμάτων και μέσω επικιασμού μεταξύ ομολόγων μη αδελφών χρωματίδων.

Η δεύτερη μειωτική διαιρέση ομοιάζει με τη μίτωση κωρίς αναδιπλασιασμό του DNA.

Η μείωση κυριαρχείται από την πρόφαση της πρώτης μειωτικής διαιρέσης η οποία περιλαμβάνει μια μακριά περίοδο και διαιρείται σε 5 διαδοχικά στάδια: δεπτοταινίας, ζυγοταινίας, παχυταινίας, διπλοταινίας και διακίνησης που καθορίζονται με μορφολογικά κριτήρια.

## ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΣΠΕΡΜΑΤΟΓΕΝΕΣΗΣ

Η διαδικασία του πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης των σπερματοζωαρίων ονομάζεται σπερματογένεση και λαμβάνει μέρος στο επιθήλιο των σπερματικών σωληναρίων. Το σπερματικό επιθήλιο δίνει

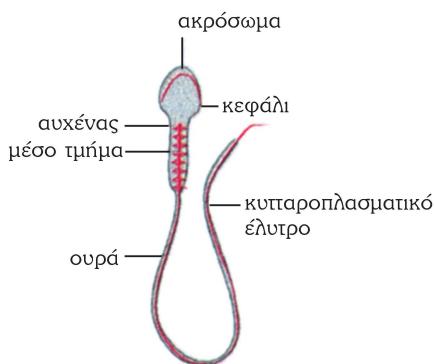
γένεση σε μια ολόκληρη σειρά κυττάρων τα οποία αριθμάζονται προοδευτικά σχηματίζουν τα σπερματοζωάρια. Οι σπουδαιότερες μορφές της σειράς αυτής είναι τα σπερματογόνια, τα σπερματοκύτταρα πρώτης και δεύτερης τάξης και οι σπερματίδες από τις οποίες προέρχονται τα σπερματοζωάρια (Εικ. 1-2).

Η περίπλοκη αυτή διαδικασία της μετατροπής των σπερματογονίων σε σπερματοζωάρια διαρκεί περίπου 64 ημέρες.

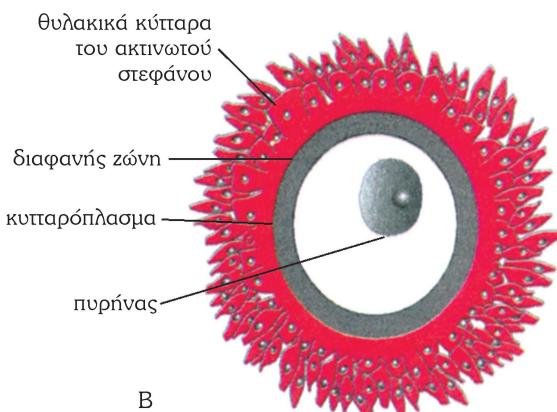
Τα σπερματοζωάρια που απελευθερώνονται από το σπερματικό επιθήλιο δεν είναι ικανά να γονιμοποιήσουν. Κατά τη διάρκεια του ταξιδιού τους από τον δρχη και πλησίον του ωαρίου, τα σπερματοζωάρια εναιωρούνται στα εξιδρώματα και εκκρίσεις της ανδρικής και γυναικείας οδού. Η χημική και φυσική δομή αυτών των υγρών αλλάζει προοδευτικά και τα σπερματοζωάρια επίσης υφίστανται μορφολογικές, χημικές και αλλαγές συμπεριφοράς.

Το τελευταίο στάδιο της ωρίμανσης των σπερματοζωαρίων είναι γνωστό ως ενεργοποίηση (capacitation), λειτουργικός όρος ο οποίος χρησιμοποιείται να δεικνύει τις αλλαγές των σπερματοζωαρίων που συμβαίνουν στη γυναικεία οδό ή στη διάρκεια της *in vitro* επώασης που τα προετοιμάζει για την αντίδραση του ακροσωμάτου.

Η ενεργοποίηση αλλάζει τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας των σπερματοζωαρίων, με αφαίρεση των παραγόντων του σπερματικού πλάσματος, τροποποιώντας το φορτίο της επιφανείας των και περιορίζοντας τη μεταβλητότητα των υποδοχέων. Αυτό σχετίζεται με ελάπτωση της σταθερότητας της μεμβράνης του πλάσματος και της μεμβράνης που βρίσκεται ακριβώς κάτω, η οποία είναι η έξω μεμβράνη του ακροσωμάτου.



A



B

### ΕΙΚΟΝΑ 1-2

(Α) Σχήμα του σπερματοζωαρίου. (Β) Σχήμα ενός ανθρώπινου ωαρίου.

## ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΩΓΕΝΕΣΗΣ

Το μη- γονιμοποιημένο ωάριο είναι το τελικό προϊόν μιας συνεχούς διαδικασίας η οποία καλείται ωογένεση, αρχίζει στην εμβρυϊκή ζωή και τελειώνει στη σεξουαλικά ώριμη του ενήλικα. Τα ωογόνια αναπτύσσονται από τα πρωτογενή γεννητικά κύτταρα στην ωοθήκη και πολλαπλασιάζονται με μίτωση στη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής.

Τον πέμπτο έως τον έκτο μήνα ο πολλαπλασιασμός σταματά και αρχίζει η μείωση. Τότε, τα ωογόνια μετατρέπονται σε ωοκύτταρα που σταματούν στο στάδιο της πρόφασης και παραμένουν σε ηρεμία από 12 έως 50 χρόνια.

Η περίοδος αυτή της ζωής χαρακτηρίζεται από τον μεγαλύτερο αριθμό ωοκυττάρων 6-7 εκατομμύρια. Απ' αυτό το σημείο ο αριθμός τους διαρκώς μειώνεται και με την έναρξη της εφηβείας έχουν παραμείνει περίπου στις 300.000. Από αυτά μόνο 400-500 περίπου ωριμάζουν και φθάνουν στην ωοθυλακιορροήσια κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ζωής της γυναίκας. Όλα τα υπόλοιπα θα εκφυλιστούν.

Από την εφηβεία, κάθε μήνα επιλέγεται ένα ωοθυλάκιο που θα ωριμάσει για να φθάσει στην ωοθυλακιορροήσια.

Το μεσοκύλιο κύμα της LH (LH surge) κάθε μήνα ενεργοποιεί το ωοθυλάκιο να ωριμάσει.

Στο ωοθυλάκιο αυτό περιέχεται ένα πλήρες ώριμο ωάριο που συμπληρώνει τη μείωση, λίγο πριν την ωοθυλακιορροήσια.

Η φάση αυτή καλείται μειωτική ωρίμανση.

Το ωάριο προοδευτικά διέρχεται διαμέσου της μετάφασης, ανάφασης, τελόφασης της πρώτης διαίρεσης και χωρίς να σταματήσει εισέρχεται στη δεύτερη διαίρεση μέχρι το στάδιο της μετάφασης.

Στον χρόνο αυτό γίνεται η ωοθυλακιορροήσια με ρήξη του ωοθυλακικού τοιχώματος στην εξωτερική επιφάνεια της ωοθήκης. Στη σάλπιγγα, το ωάριο παραμένει στην μετάφαση II μέχρι τη γονιμοποίηση, οπότε συμπληρώνει τη δεύτερη μειωτική διαίρεση.

Το ωάριο τη στιγμή της ωοθυλακιορροήσιας περιβάλλεται από μια στιβάδα κοκκωδών κυττάρων (ωοφόρος δίσκος) που είναι σε επαφή με το τοίχωμα του ωοθυλακίου. Η διαφανής ζώνη είναι ένα ακυτταρικό πορώδες στρώμα γλυκοπρωτεΐνών και διαχωρίζει το ωάριο από τα κοκκώδη κύτταρα (Εικ. 1-2).

Τα κοκκώδη κύτταρα επικοινωνούν μεταβολικά με το ωάριο διαμέσου πόρων μεταξύ της μεμβράνης του πλάσματος του ωαρίου και των κυττάρων του ωοφόρου δίσκου.

Μετά την ωοθυλακιορροήσια το ωάριο περιβαλλόμενο από τον ωοφόρο δίσκο φθάνει στην λήκυθο του

ωαγωγού μέσα σε 2-3 λεπτά. Η μεταφορά στις σάλπιγγες εξαρτάται από τις συσπάσεις των λείων μυϊκών ινών και την ροή του εκκριτικού υγρού από τον ενδοσαλπίγγιο. Η σάλπιγγα παρέχει μια σπουδαία δράση διότι δίνει τον απαραίτητο χρόνο στο ενδομήτριο να γίνει αποδεκτικό και στην βλαστοκύστη ικανή για εμφύτευση, ένα διάστημα περίπου 80 ωρών, 90% του οποίου είναι στην λήκυθο.

## ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ

Η γονιμή περίοδος του ανθρώπινου ωαρίου είναι άγνωστη, αλλά οι περισσότεροι εκτιμούν ότι κυμαίνεται μεταξύ 12 και 24 ωρών (Εικ. 1-3)

Έχει βρεθεί ότι ανώριμα ανθρώπινα ωάρια που λαμβάνονται στην εξωσωματική γονιμοποίηση μπορούν να γονιμοποιηθούν μετά από 36 ώρες επώασης.

Ο χρόνος ζωής των σπερματοζωαρίων εκτιμάται ότι κυμαίνεται μεταξύ 48 και 72 ωρών και η κινητικότητα μπορεί να διατηρηθεί ακόμη και μετά την απώλεια της γονιμοποιητικής τους ικανότητας.

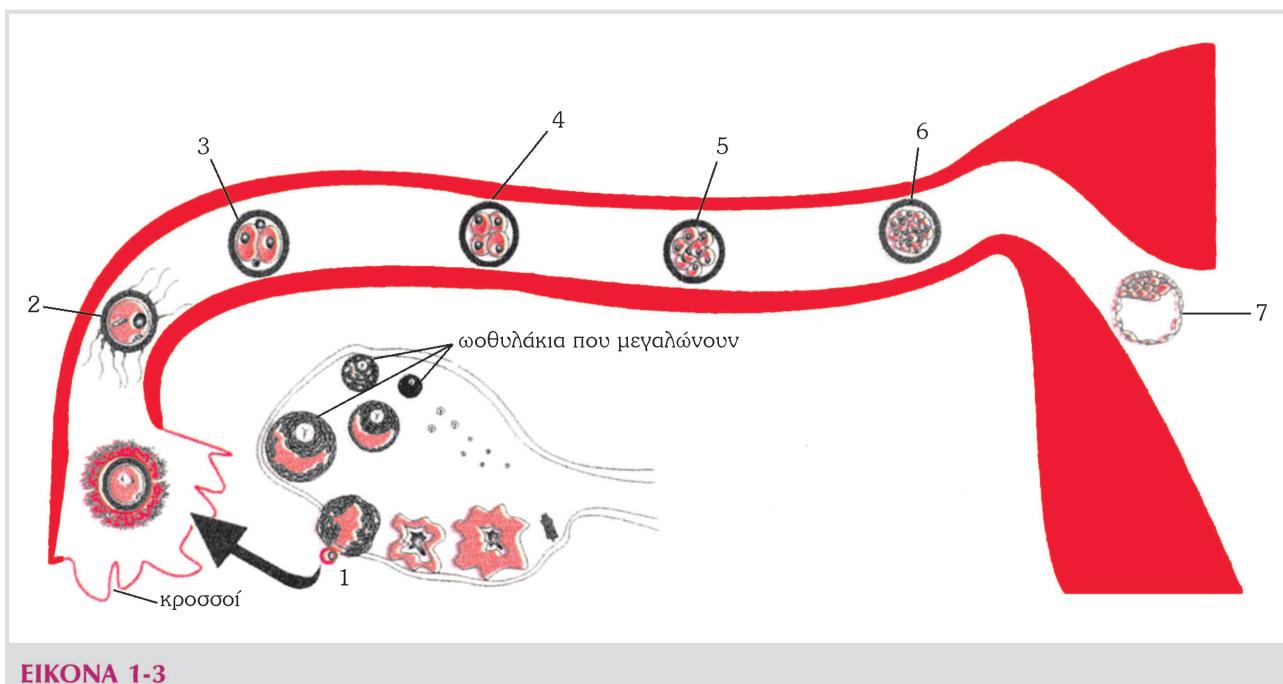
Η επαφή του σπερματοζωαρίου με το ωάριο γίνεται στο ευρύτερο τμήμα της σάλπιγγας, γνωστό ως λήκυθος.

Παρ' ότι η πλειονότητα των ερευνητών πιστεύει ότι η διαδικασία είναι μάλλον τυχαία, υπάρχουν μερικά στοιχεία σχετικά με μηχανισμούς που έχουν σχέση με την επαφή του σπέρματος και του ωαρίου (Εικ. 1-4). Η ακυτταρική διαφανής ζώνη που περιβάλλει το ωάριο στην ωοθυλακιορροήσια και παραμένει μέχρι την εμφύτευση έχει δύο λειτουργίες στη διαδικασία της γονιμοποίησης.

1. Η διαφανής ζώνη έχει υποδοχείς για τα σπερματοζωάρια οι οποίοι είναι, με μερικές εξαιρέσεις, σχεδόν ειδικοί για το είδος.
2. Η διαφανής ζώνη υφίσταται την “αντίδραση της ζώνης” με την οποία η ζώνη γίνεται αδιαπέραστος σε άλλα σπερματοζωάρια μετά τη διείσδυση του ενός σπερματοζωαρίου και εμποδίζει τον πολυπλοειδισμό.

Η διείσδυση διαμέσου της διαφανούς ζώνης είναι ταχεία και σημαντικό ρόλο παίζει η ακροσίνη, μια πρωτεΐνη με δράση τρυψίνης που βρίσκεται στο έσω μέρος της μεμβράνης του ακροσωμάτου των σπερματοζωαρίων.

Το ακροσώμιο είναι ένα οργανίδιο στο πρόσθιο τμήμα της κεφαλής των σπερματοζωαρίων και βρίσκεται ακριβώς κάτω από τη μεμβράνη του πλάσματος.



ΕΙΚΟΝΑ 1-3

Σχηματική παράσταση της ωοθυλακιορρηξίας και της γονιμοποίησης (1) Όριμο ωάριο (2) Γονιμοποίηση (3) Στάδιο δύο κυττάρων (4) Στάδιο τεσσάρων κυττάρων (5) Στάδιο οκτώ κυττάρων (6) Μορίδιο (7) Βλαστοκύστη.

Περιέχει έννυμα που εξέρχονται με την “αντίδραση του ακροσωμάτου” (Εικ.1-5).

Η αντίδραση αυτή απαιτεί είσοδο ιόντων Ca, έξοδο υδρογόνου, μια αύξηση του PH και συνένωση της μεμβράνης του πλάσματος με την έξω μεμβράνη του ακροσωμάτου που οδηγεί στη διαφυγή ενζύμων που περιέχονται στην έξω μεμβράνη του ακροσωμάτου. Η απώλεια του ακροσωμάτου γίνεται λίγο πριν τη γονιμοποίηση και θεωρείται ότι η αντίδραση του ακροσωμάτου προκαλείται εξαιτίας της εξόδου από τη διαφανή ζώνη, μιας γλυκοπρωτεΐνης - υποδοχέα των σπερματοζωαρίων.

Η αρχική επαφή μεταξύ σπερματοζωαρίου και ωαρίου είναι μια διαδικασία διαμέσου υποδοχέων. Οι υποδοχείς των σπερματοζωαρίων στη διαφανή ζώνη είναι γλυκοπρωτεΐνες, γνωστές ως ZP1, ZP2 και ZP3. Δομικές αλλαγές σ' αυτές τις γλυκοπρωτεΐνες οδηγούν σε απώλεια της δράσης των υποδοχέων. Η απενεργοποίηση αυτών των υποδοχέων μετά την γονιμοποίηση, πιθανόν συμπληρώνεται από ένα ή περισσότερα κοκκιοσωμάτια του φλοιού.

Το γονίδιο της ZP3 εκφράζεται μόνο στα ωριμάζοντα ωοθυλάκια. Η αρχική σύνδεση του σπερματοζωαρίου με την ζώνη απαιτεί αναγνώριση του μέρους του σπερματοζωαρίου του υδατανθρακικού στοιχείου, ειδικό για το μόριο της γλυκοπρωτεΐνης του υποδοχέα. Όταν συμπληρωθεί η σύνδεση, η αντίδραση του ακροσωμάτου ενεργοποιείται από μια αλυσίδα πεπτιδίων στοιχείων της γλυκοπρωτεΐνης του υποδοχέα. Αυτή η αντίδραση είναι ανάλογη της γενικής αρχής που διέπει τη συμπεριφορά, σύνδεση και δράση ορ-

μόνης- υποδοχέα. Στην περίπτωση σπερματοζωαρίου και ωαρίου, η αναγνώριση του υποδοχέα της ζώνης του ωαρίου μπορεί να γίνεται μέσω ενός ενζύμου (γαλακτούντρανσφεράσης και άλλων) επάνω στην επιφάνεια του σπερματοζωαρίου η οποία εκτίθεται στη διάρκεια της ενεργοποίησης.

Ο σχηματισμός του συμπλέγματος ενζύμου - ZP3 δε δημιουργεί μόνο τη σύνδεση, αλλά επίσης προκαλεί την αντίδραση του ακροσωμάτου.

Η έναρξη παρεμπόδισης άλλων σπερματοζωαρίων να διαπεράσουν τη διαφανή ζώνη και την ωοπλασματική μεμβράνη τροποποιείται από την αντίδραση του φλοιού, όπου απελευθερώνεται υλικό από τα κοκκιοσωμάτια του φλοιού, οργανιλή με δράση λυσσοσωμάτων που περιέχουν διάφορα υδρολυτικά έννυμα.

Οι αλλαγές που προκαλούν αυτά τα έννυμα οδηγούν στην αντίδραση της ζώνης, το έξω κυππαρικό τοίχωμα γίνεται αδιαπέραστο με σύνδεση πρωτεΐνών και αδρανοποιούνται οι υποδοχείς των σπερματοζωαρίων. Έτσι, η ζώνη εμποδίζει την πολυσπερμία. Η αρχική αλλαγή στη ζώνη είναι μια ταχεία αποφόρτωση της μεμβράνης του ωοκυπάρου που σχετίζεται με την απελευθέρωση Ca από την καλμοδουλίνη. Η αύξηση του ενδοκυπταρίου Ca δρα σαν έναυσμα ή πυροδοτεί την ενεργοποίηση σύνθεσης πρωτεΐνών μέσα στο ωάριο. Η αποφόρτωση της μεμβράνης δημιουργεί αρχικά ένα προσωρινό εμπόδιο στην είσοδο άλλου σπερματοζωαρίου και ακολουθεί η αντίδραση του φλοιού και η απελευθέρωση ενζύμων που καθιστά μόνιμα αδιαπέραστη την ζώνη.