



ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ



*Σοφία Χαβάκη
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια
Εργαστήριο Ιστολογίας – Εμβρυολογίας
ΕΚΠΑ*

ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

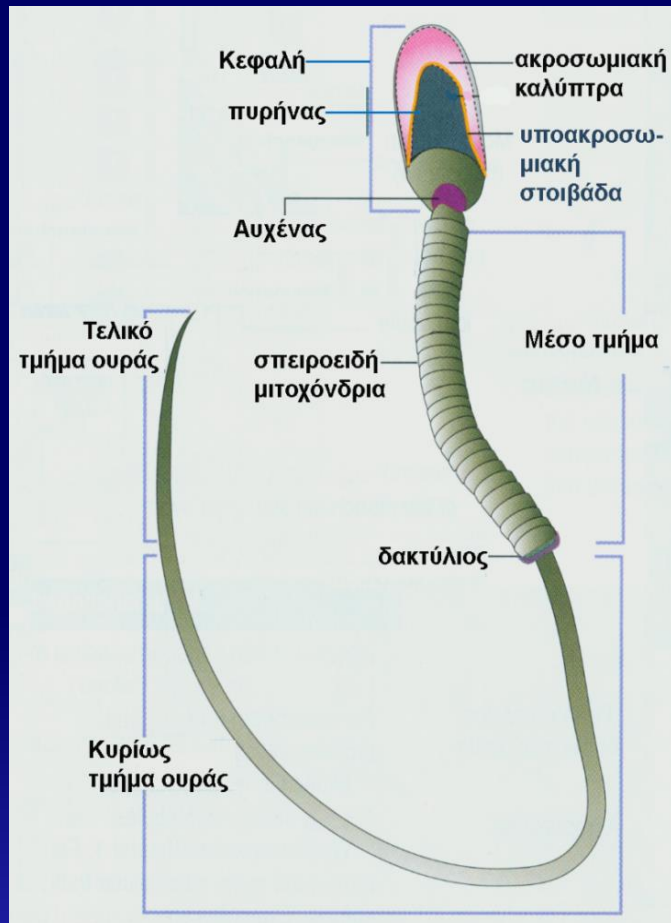
1. Σύντηξη κυτταρικών μεμβρανών του **αρσενικού** (σπερματοζωαρίου) και του **θηλυκού** γαμέτη (ωοκυττάρου) (*απλοειδείς*)

2. **Συγχώνευση** των πυρήνων ωοκυττάρου και σπερματοζωαρίου.

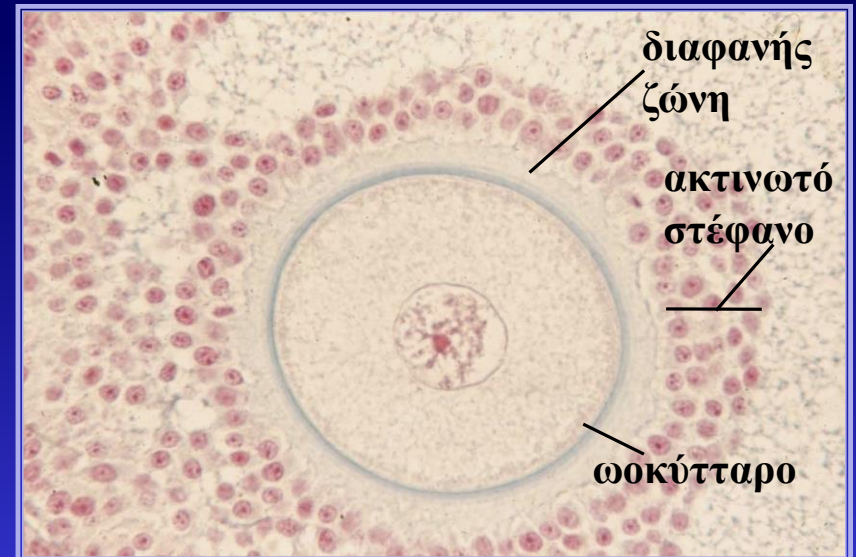
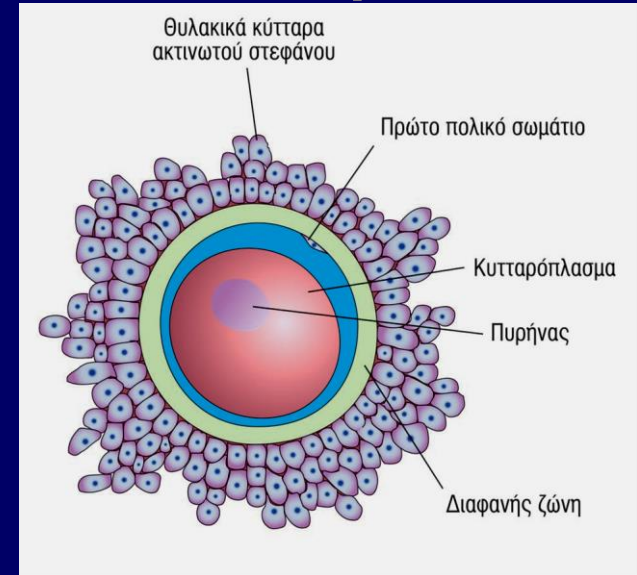
3. Σχηματισμός του **ζυγώτη** (*διπλοειδής*)

Γαμέτες

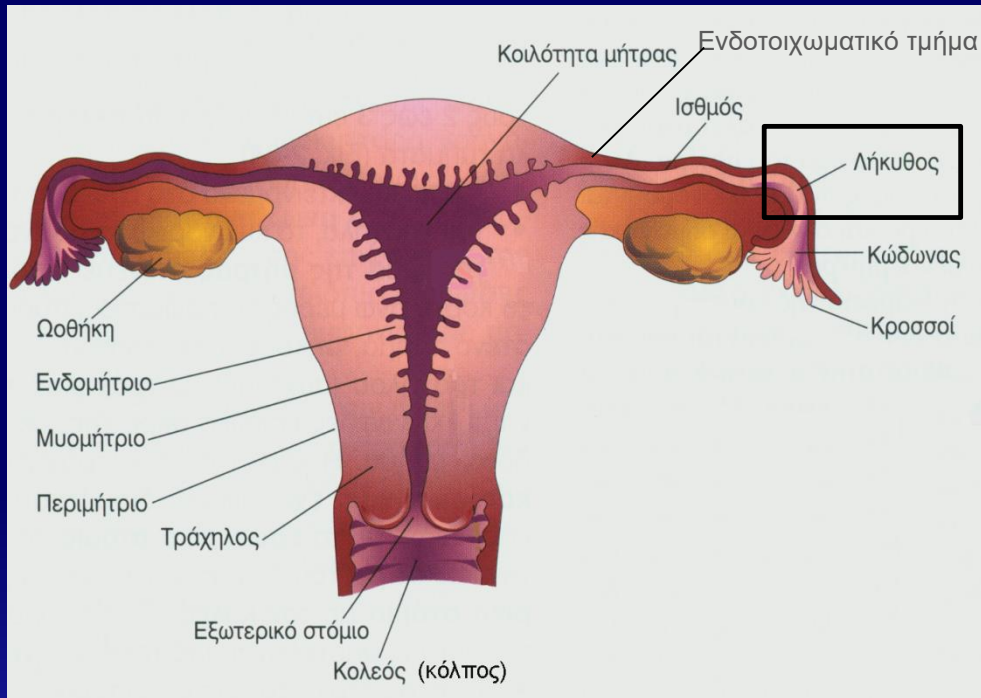
Σπερματοζώαριο



Ωάριο

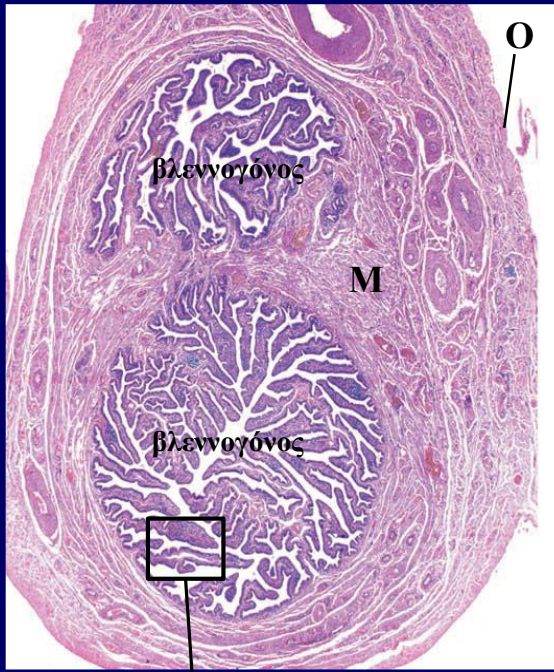


Θέση γονιμοποίησης



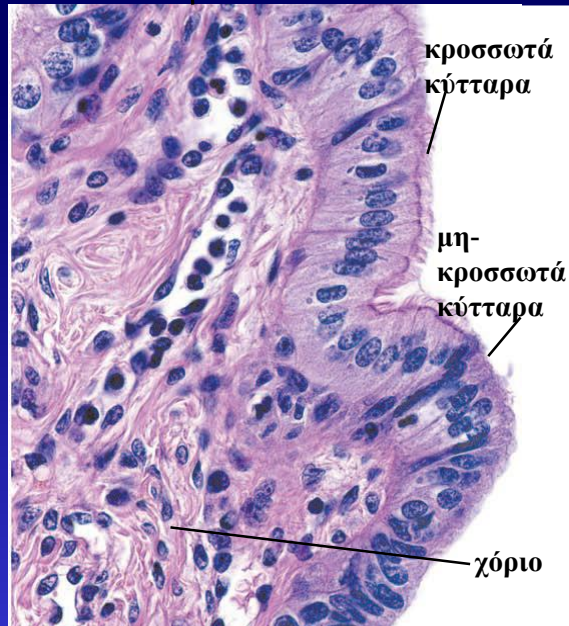
Η θέση γονιμοποίησης είναι
η **λήκυθος** του **ωαγωγού**
(24-48h μετά την ωορρηξία)

Ωαγωγός



Το τοίχωμα του ωαγωγού αποτελείται από :

1. Τον **ορογόνο χιτώνα (O)**
2. Τον **μυικό χιτώνα (M)** : δύο στοιβάδες λείου μυός
3. Τον **βλεννογόνο**, διαμορφώνει λεπτές επιμήκειες πτυχές που προβάλλουν στον αυλό του ωαγωγού (λιγότερες στον ισθμό – περισσότερες στη λήκυθο).

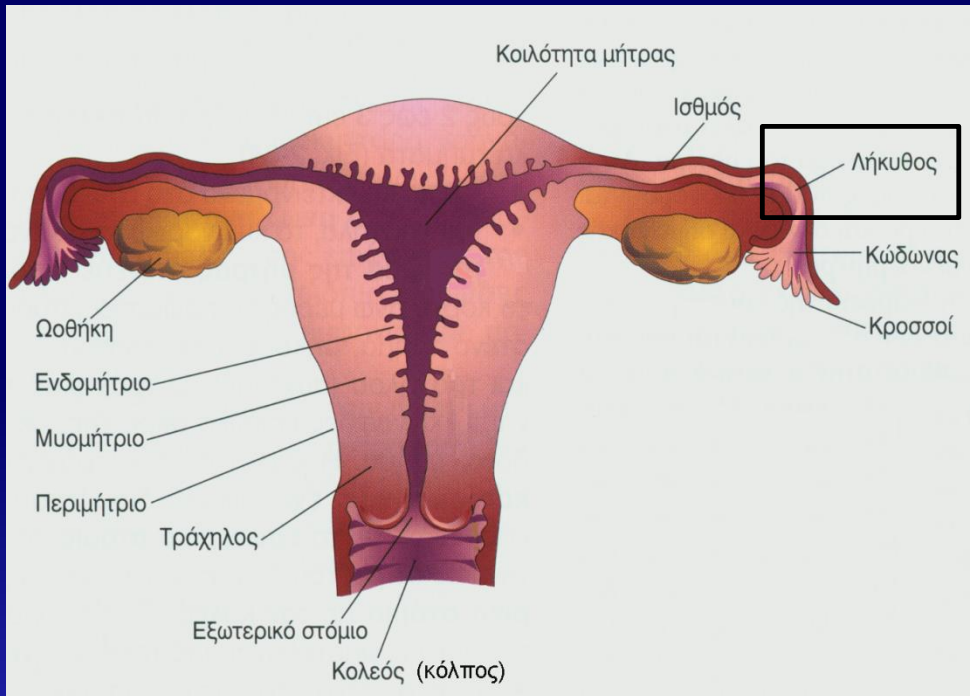


Βλεννογόνος :

- **Επιθήλιο** $\left\{ \begin{array}{l} \text{Κροσσωτά επιθηλιακά κύτταρα} \\ \text{Μη-κροσσωτά επιθηλιακά κύτταρα} \end{array} \right.$
- **Χόριο** : χαλαρός συνδετικός ιστός, λεία μυικά κύτταρα (λίγα), αιμοφόρα αγγεία

Θέση γονιμοποίησης

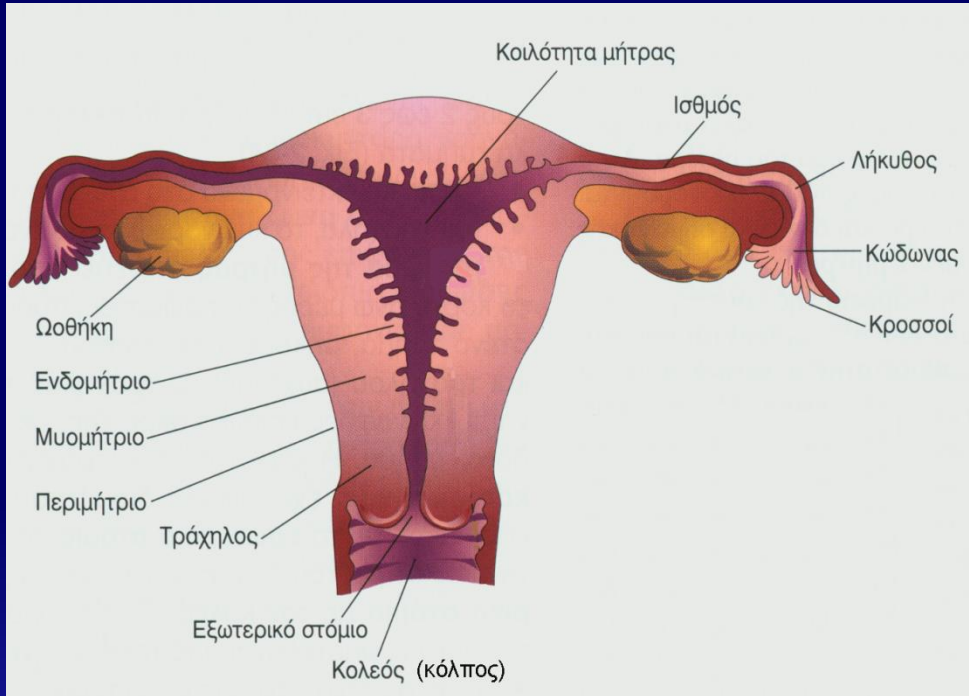
Η θέση γονιμοποίησης είναι η **λήκυθος** του **ωαγωγού** (24-48h μετά την ωορρηξία)



Η μετακίνηση του ωοκυττάρου κατά μήκος του ωαγωγού ευνοείται από:

- το χωνοειδές στόμιο του κώδωνα και τους **κροσσούς** του ωαγωγού
- τους **κροσσούς των επιθηλιακών κυττάρων** του βλεννογόνου του ωαγωγού
- το **υδαρές υγρό** που παράγεται από τα εκκριτικά μη-κροσσωτά κύτταρα του βλεννογόνου ωαγωγού
- τη **συστολή των λείων μυϊκών ινών** του τοιχώματος του ωαγωγού

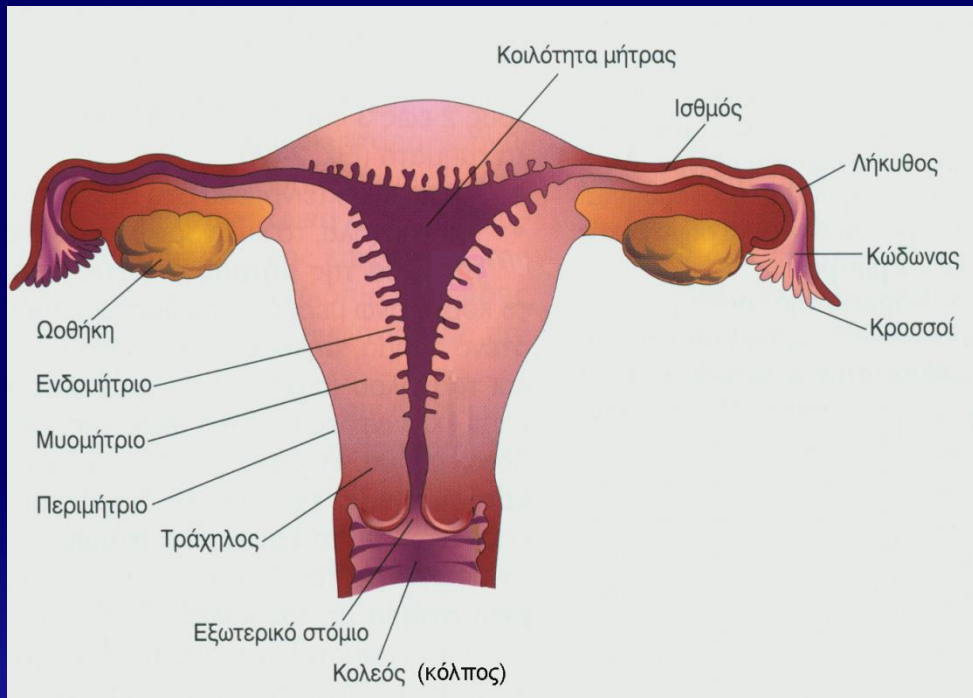
Πως τα σπερματοζωάρια κινούνται προς τον ωαγωγό;



Η μετακίνηση των σπερματοζωαρίων προς τον ωαγωγό διευκολύνεται από:

- τη μυική συσταλτική δραστηριότητα **του κολεού (κόλπου)**, της **μήτρας** και του **ωαγωγού**
- την **κίνηση της ουράς τους**

Πως τα σπερματοζωάρια καθοδηγούνται προς το ωάριο;



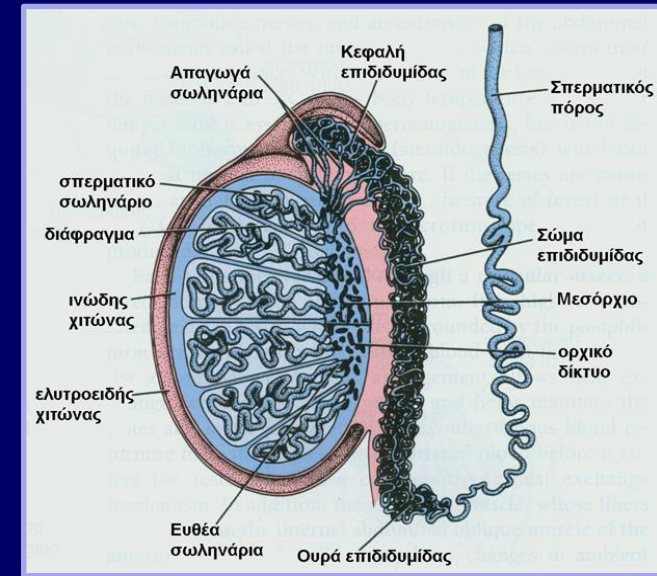
- **Χημειοπροσελκυστική κλίση** στο υγρό του ωαγωγού. Προέρχεται από το **ωάριο** και τα **κοκκιώδη κύτταρα** του ακτινωτού στεφάνου
- **Κλίση θερμοκρασίας** μεταξύ του ισθμού (34.7°C) και της ληκύθου (36.3°C)
- Συστολές του μυϊκού χιτώνα του ωαγωγού

...Πριν την γονιμοποίηση

1. Ωρίμανση σπερματοζωαρίων

Πού; **στην επιδιδυμίδα**
(γεννητικό σύστημα άρρενος)

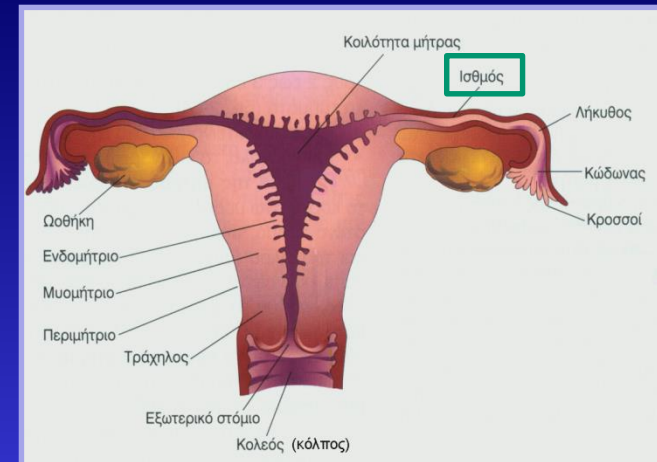
Χρονική διάρκεια: **14 ημέρες**



2. Απόκτηση γονιμοποιητικής ικανότητας σπερματοζωαρίων

Πού; **στον ισθμό του ωαγωγού**
(γεννητικό σύστημα θήλεος)

Χρονική διάρκεια: **7 ώρες**

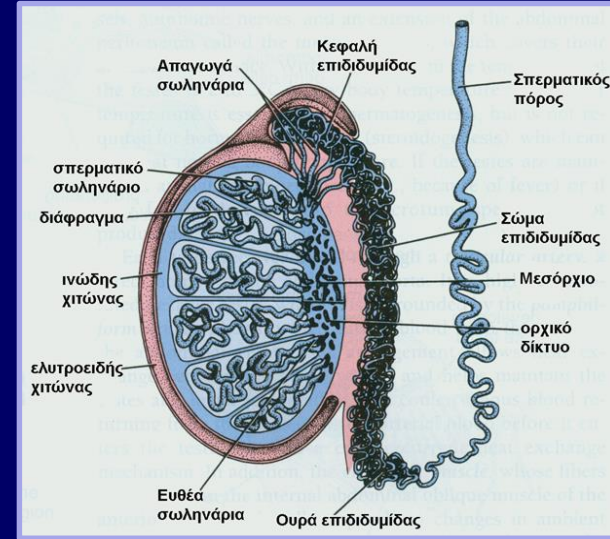


Ωρίμανση σπερματοζωαρίων

Κεφαλή επιδιδυμίδας: Ελλειπής κινητικότητα σπερματοζωαρίου. Η ουρά κινείται με *ελαφριά δόνηση* → **κυκλική κίνηση** σπερματοζωαρίου.

Σώμα επιδιδυμίδας
Ουρά επιδιδυμίδας }

Το σπερματοζωάριο αποκτά την προς **τα πρόσω** κίνησή του.



- Σταθεροποίηση της συμπυκνωμένης χρωματίνης.
 - Προσθήκη γλυκοπρωτεϊνών
 - Προσθήκη νέων πρωτεϊνών
- στην κυτταρική μεμβράνη του σπερματοζωαρίου

Στην ουρά της επιδιδυμίδας γίνεται *αποθήκευση των σπερματοζωαρίων* μέχρι την εκσπερμάτιση.

Απόκτηση γονιμοποιητικής ικανότητας των σπερματοζωαρίων

Βιοχημική διεργασία κατά την οποία απομακρύνονται από την **κυτταρική μεμβράνη** του σπερματοζωαρίου **οι γλυκοπρωτεΐνες από την επιδιδυμίδα και τις σπερματοδόχες κύστες**.



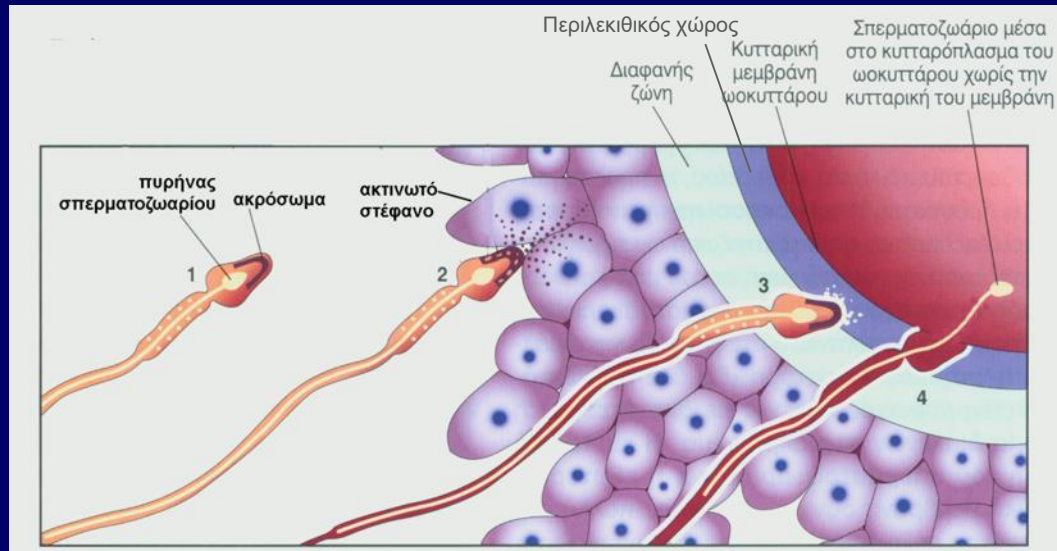
1. **Αύξηση διαβατότητας** της κυτταρικής μεμβράνης σε **διττανθρακικά ιόντα** $\longrightarrow$ **αύξηση** επιπέδων ενδοκυτταρικού **cAMP** $\longrightarrow$ **έναρξη** διαδικασίας **απόκτησης γονιμοποιητικής ικανότητας**
2. **Αύξηση διαβατότητας** της κυτταρικής μεμβράνης σε **Ca²⁺** $\longrightarrow$ αύξηση συγκέντρωσης ενδοκυτταρικά του **Ca²⁺** αρχικά στο κύριο τμήμα της ουράς και μετά στην κεφαλή των σπερματοζωαρίων σε λίγα λεπτά $\longrightarrow$

επαγωγή αντίδρασης ακροσώματος
3. **Αλλαγή ενδοκυτταρικού pH** (από όξινο $\longrightarrow$ σε αλκαλικό) $\longrightarrow$
ολοκλήρωση διαδικασίας **απόκτησης γονιμοποιητικής ικανότητας** $\longrightarrow$

υπερενεργοποίηση σπερματοζωαρίων

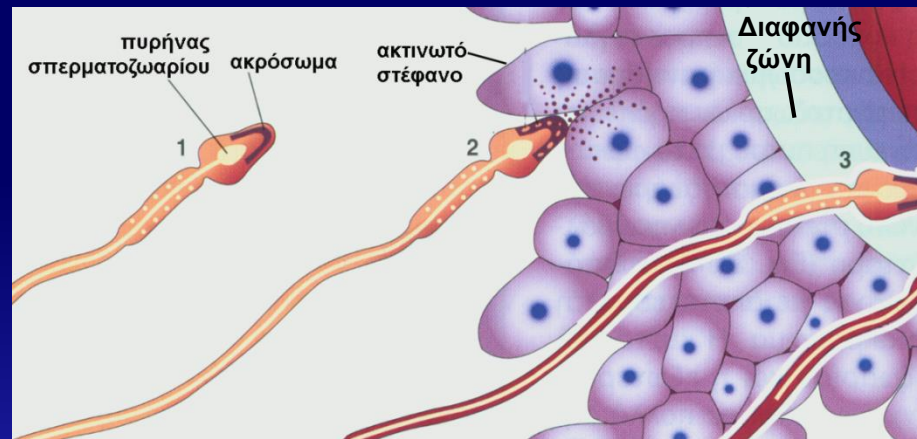
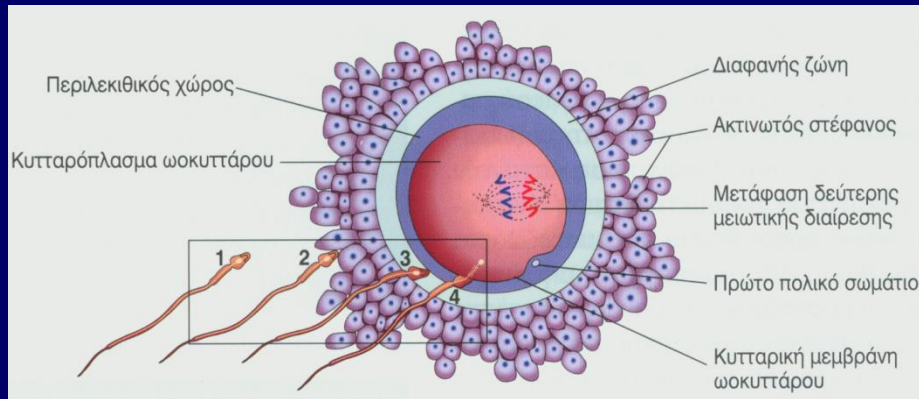
 (έντονη κινητικότητα της ουράς)

Φάσεις γονιμοποίησης



- **Διέλευση** σπερματοζωαρίου μέσω του **ακτινωτού στεφάνου** – έναρξη αντίδρασης ακροσώματος
- **Διέλευση** σπερματοζωαρίου μέσω της **διαφανούς ζώνης**- συνέχιση αντίδρασης ακροσώματος
- **Σύντηξη** κυτταρικών μεμβρανών του **ωοκυττάρου** και του **σπερματοζωαρίου**
- **Συμπλήρωση** της 2^{ης} μειωτικής διαίρεσης του ωοκυττάρου και **σχηματισμός** του θήλυ προπυρήνα
- **Σχηματισμός** του αρρενα προπυρήνα
- **Συγχώνευση** προπυρήνων – **Σχηματισμός** ζυγώτη από ωοτίδα

Αντίδραση ακροσώματος



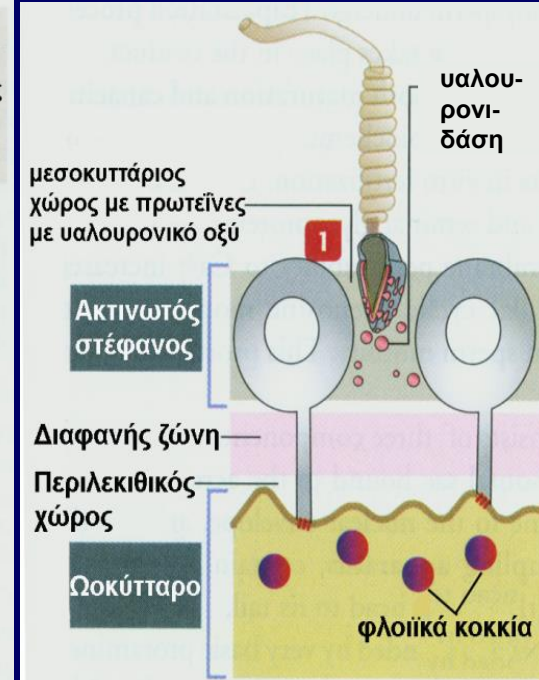
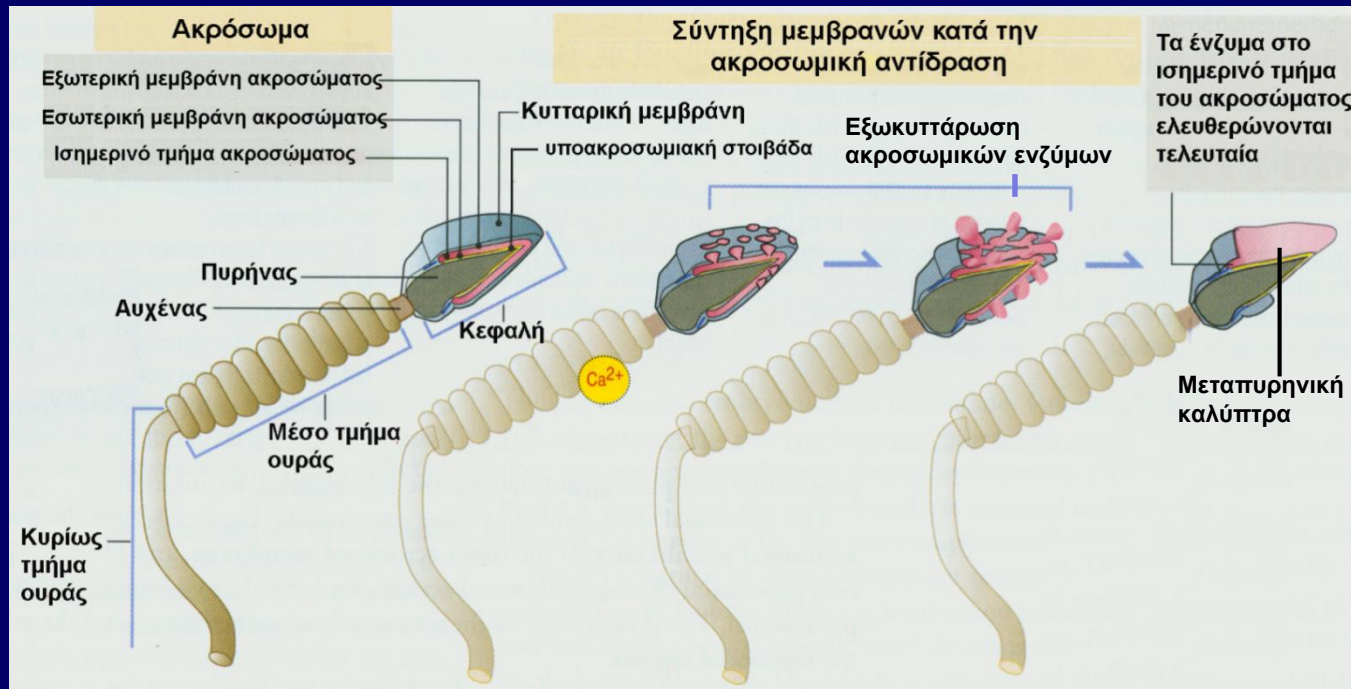
Όταν τα **υπερενεργοποιημένα σπερματοζωάρια** έρθουν σε **επαφή** με το **ακτινωτό στέφανο** προκαλούνται δομικές και μοριακές αλλαγές με αποτέλεσμα τη δημιουργία **διάκενων** στο **ακρόσωμα**.



Πρόκληση
αντίδρασης ακροσώματος

*Η αντίδραση ακροσώματος αρχίζει με την επαφή του σπερματοζωαρίου με το ακτινωτό στέφανο και **συνεχίζεται** κατά τη διέλευση της διαφανούς ζώνης*

Αντίδραση ακροσώματος



1. Σύντηξη κυτταρικής μεμβράνης σπερματοζωαρίου με εξωτερική μεμβράνη ακροσώματος $\xrightarrow{\text{παρουσία } Ca^{2+}}$ δημιουργία **διάκενων**
2. Εξωκυττάρωση ακροσωμικών ενζύμων: **υαλουρονιδάση** $\longrightarrow$ διάσπαση μεσοκυττάριου υλικού των κοκκιωδών κυττάρων του ακτινωτού στεφάνου + ένζυμα βλεννογόνου του ωαγωγού + κίνηση ουράς σπερματοζωαρίου $\longrightarrow$ **διέλευση ακτινωτού στεφάνου**

Διέλευση διαφανούς ζώνης

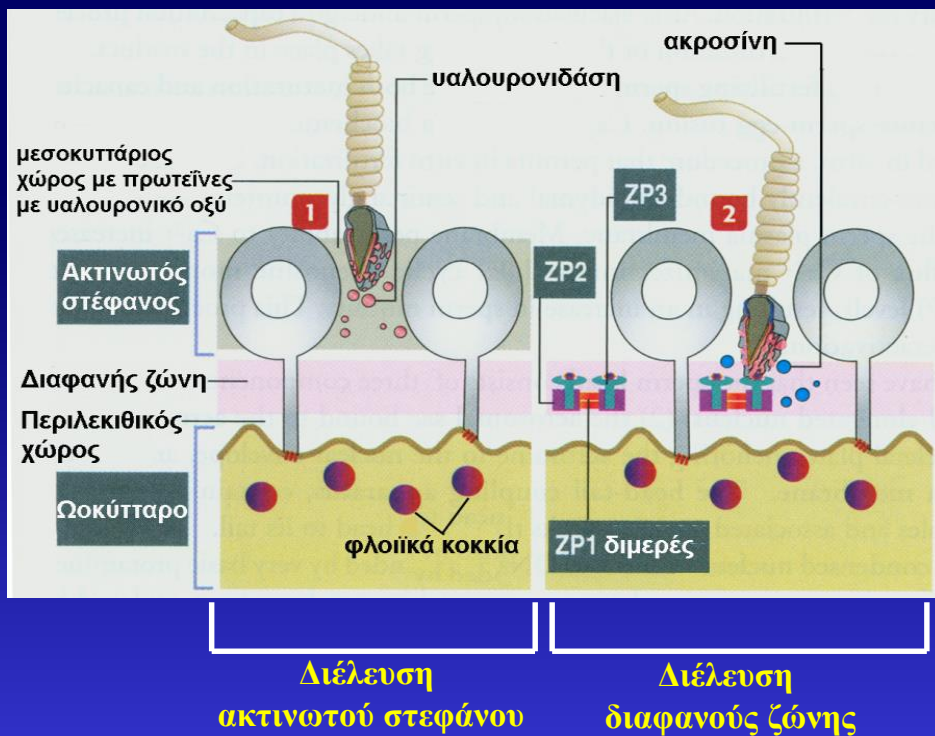
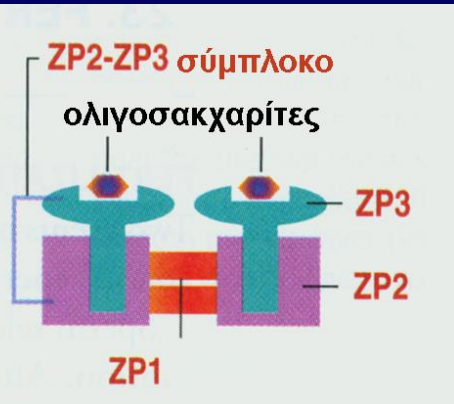
Διαφανής ζώνη: γλυκοπρωτεϊνική στιβάδα (6-7 μ m) που καλύπτει το ωοκύτταρο.

Σύνθεση: από το πρωτογενές ωοκύτταρο

Σύσταση: ZP1, ZP2, ZP3

ZP2+ZP3: σύμπλεγμα επιμήκων νηματίων.

Αλληλοσυνδέονται μέσω της ZP1.



- Η ZP3 είναι υπεύθυνη για την πρόσδεση των σπερματοζωαρίων μέσω του O-ολιγοσακχαρίτη που συνδέεται με την ZP3.
- Η ZP3 είναι υπεύθυνη για την ειδική για το κάθε είδος πρόσδεση των σπερματοζωαρίων παρεμποδίζοντας τη γονιμοποίηση ωαρίου από σπερματοζωάριο άλλου είδους.

Διέλευση διαφανούς ζώνης

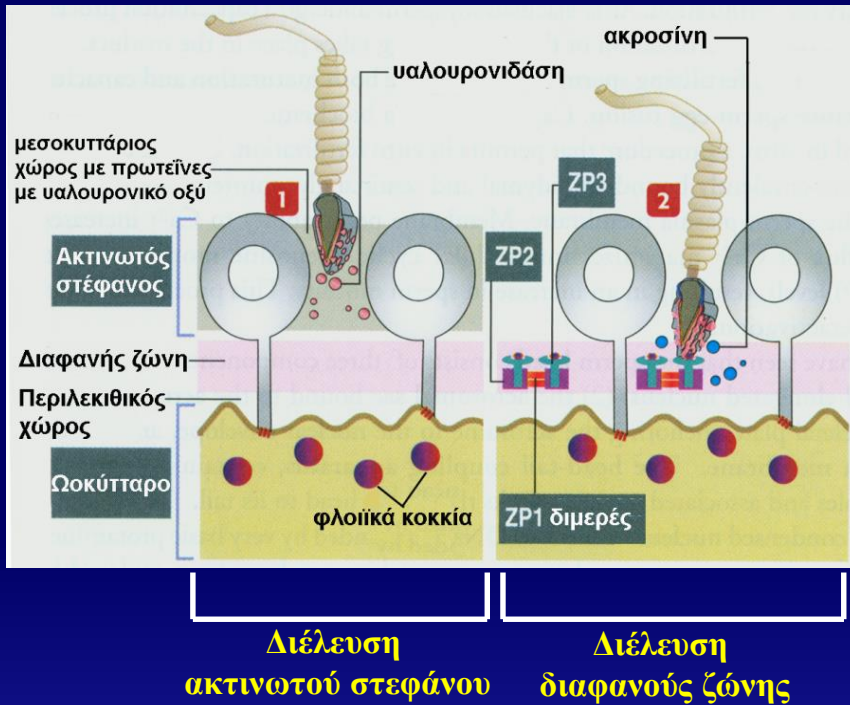
Το **σπερματοζώαριο** που φτάνει στη διαφανή ζώνη προσδένεται στη **ZP3** (μέσω του Ο-ολιγοσακχαρίτη)



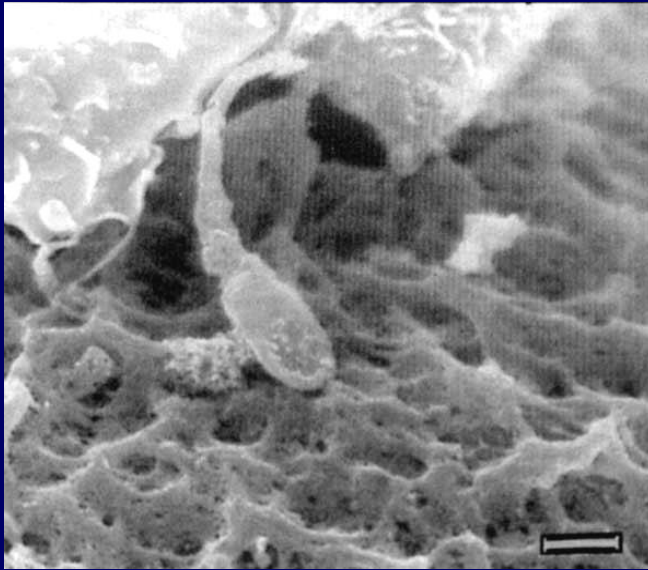
ελευθέρωση ακροσωμικών ενζύμων από την εσωτερική ακροσωμιακή μεμβράνη : **ακροσίνη**



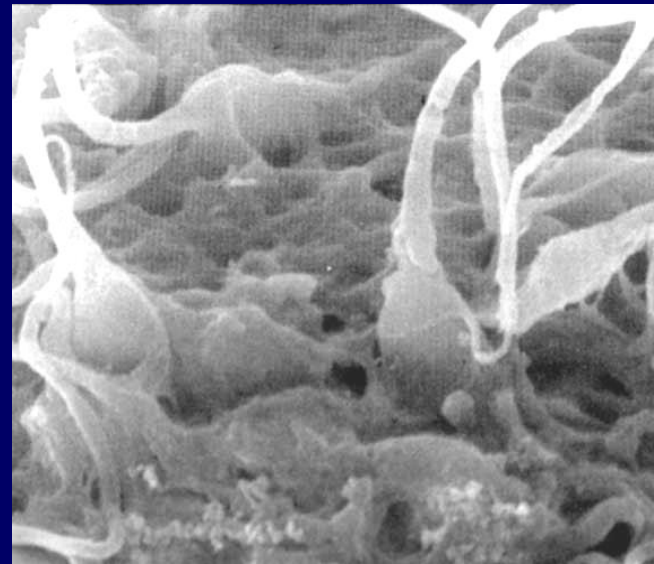
διέλευση διαφανούς ζώνης



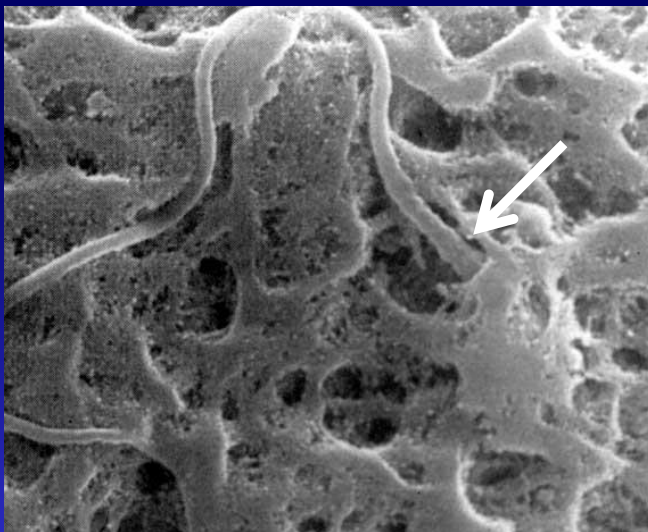
Προσκόλληση σπερματοζωαρίων στη διαφανή ζώνη



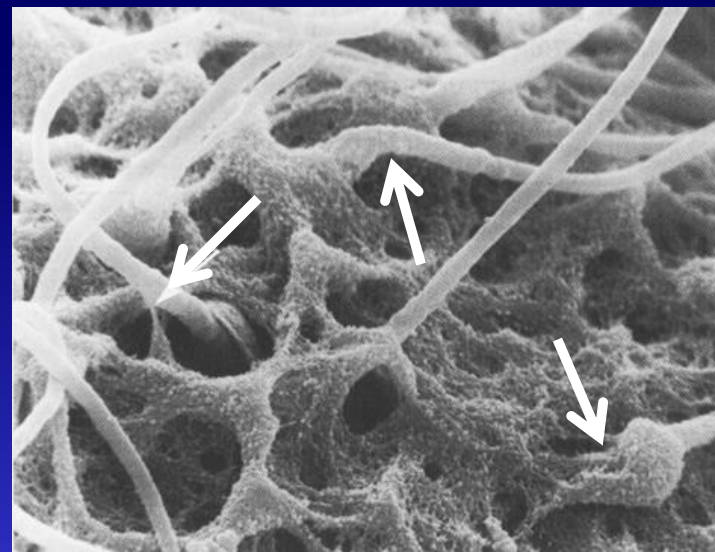
Χαλαρή προσκόλληση



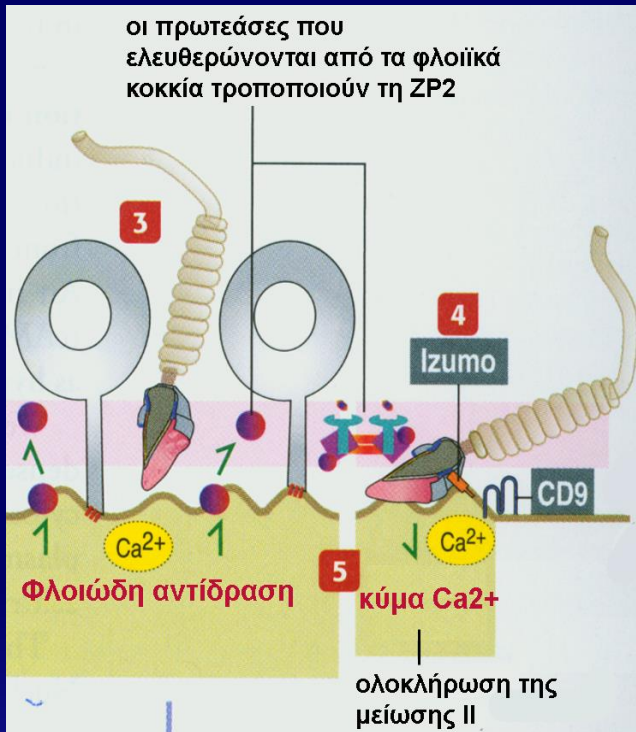
Κάθετη διείσδυση



Διείσδυση κατ' επαπτομένη



Σύντηξη κυτταρικών μεμβρανών ωοκυττάρου και σπερματοζωαρίου



Το **πρώτο σπερματοζωάριο** (αφού διαπεράσει τη διαφανή ζώνη) που έρχεται σε επαφή με τη μεμβράνη του ωοκυττάρου

σύντηξη μεμβρανών των δύο γαμετών μέσω

πρωτεϊνών **σπερματοζωαρίου: IZUMO**
και πρωτεϊνών **ωοκυττάρου: JUNO, CD9.**

Izumo1 - Juno σύμπλεγμα

- Η σύντηξη των μεμβρανών του σπερματοζωαρίου-ωαρίου προκαλεί μία **ήπια εκπόλωση** της κυτταρικής μεμβράνης του ωαρίου, η οποία οδηγεί σε **αύξηση των ενδοκυττάριων επιπέδων του Ca²⁺** διαμέσου του κυτταροπλάσματος του ωαρίου **σε λίγα δευτερόλεπτα** ➡

ενεργοποίηση του ωοκυττάρου

Σύντηξη κυτταρικών μεμβρανών ωοκυττάρου και σπερματοζωαρίου

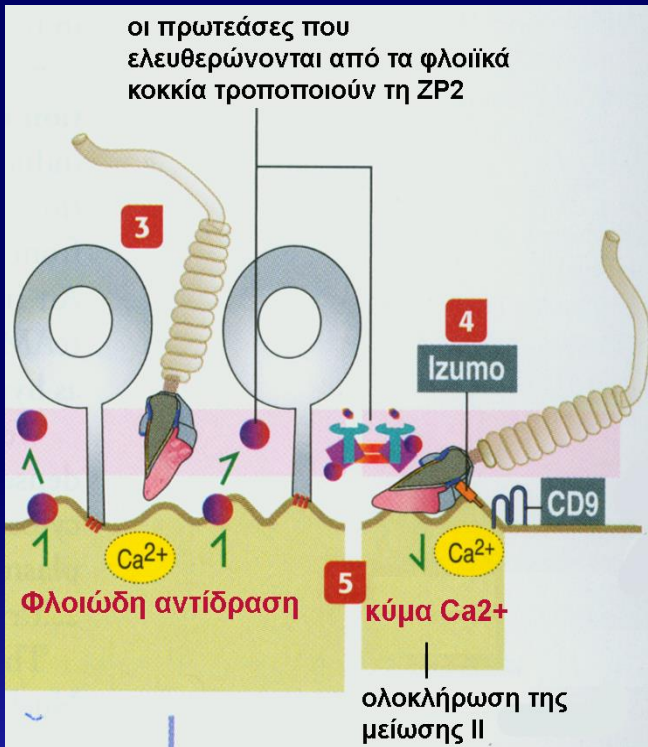
Η ενεργοποίηση του ωοκυττάρου προκαλεί την:

1. Επαγωγή φλοιώδους αντίδρασης →
εξωκυττάρωση της πρωτεάσης
ωαστασίνης από τα φλοιώδη κοκκία του
ωοκυττάρου → απομάκρυνση
ολιγοσακχαριτών από τη ZP3 και διάσπαση
της ZP2 → αποδιάταξη συμπλόκου
ZP2-ZP3

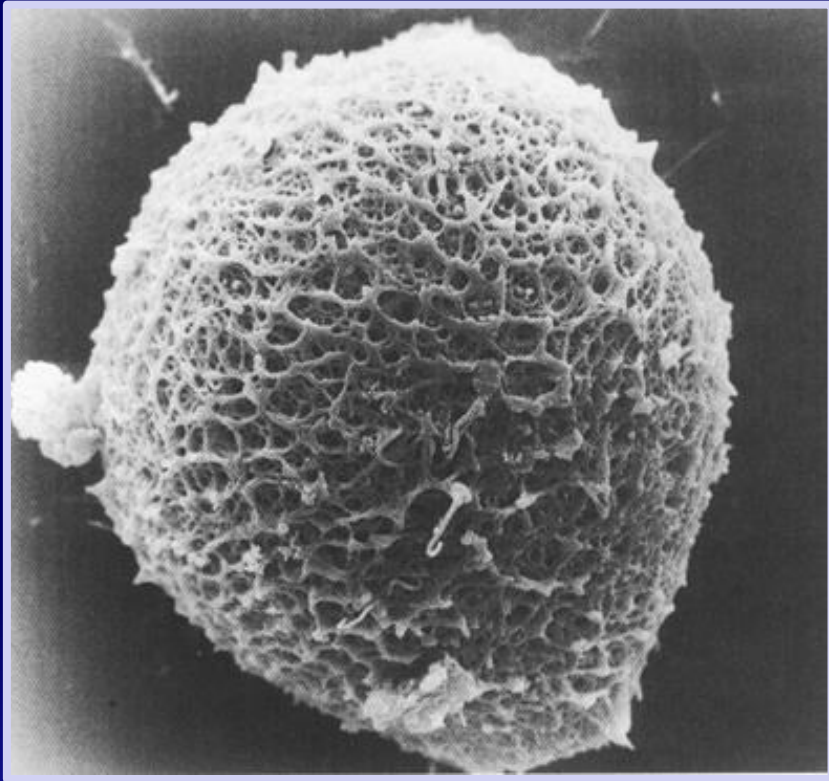
↓
αλλαγή σύστασης της διαφανούς ζώνης
(λείου τύπου)

↓
αδιαπέραστη σε άλλα σπερματοζωάρια

↓
παρεμπόδιση πολυσπερμίας

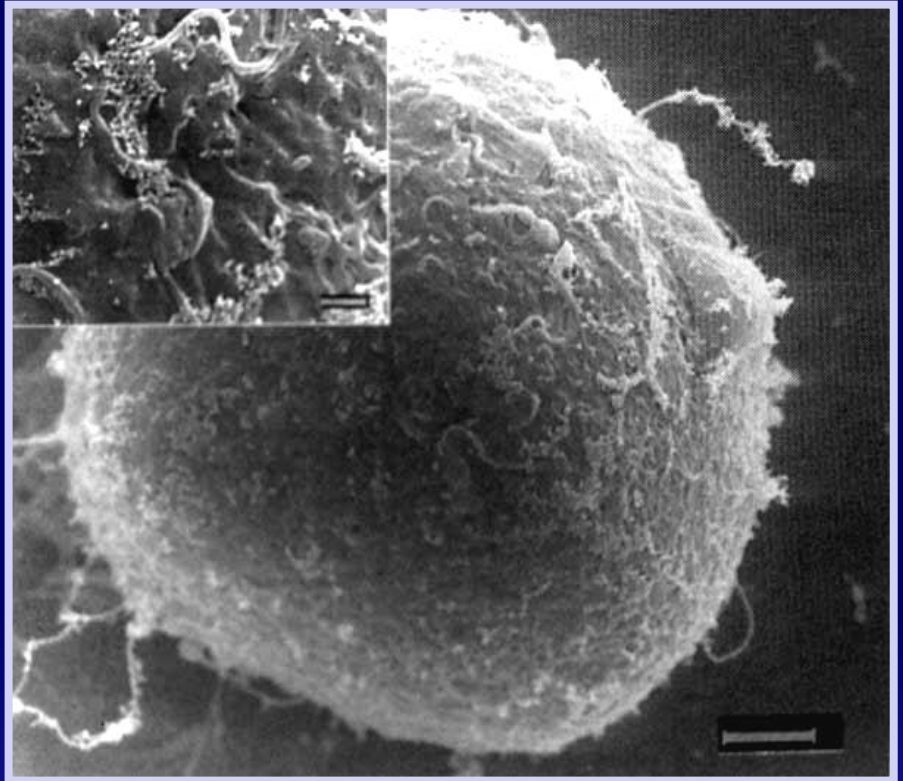


Διαφανής ζώνη



Δικτυωτός τύπος διαφανούς ζώνης

Μη γονιμοποιημένο ωάριο



Λείος τύπος διαφανούς ζώνης

Γονιμοποιημένο ωάριο

Σύντηξη κυτταρικών μεμβρανών ωοκυττάρου και σπερματοζωαρίου

Η ενεργοποίηση του ωοκυττάρου προκαλεί την:

**2. Πυροδότηση της συνέχισης της 2^{ης}
μειωτικής διαίρεσης του δευτερογενούς
ωοκυττάρου**



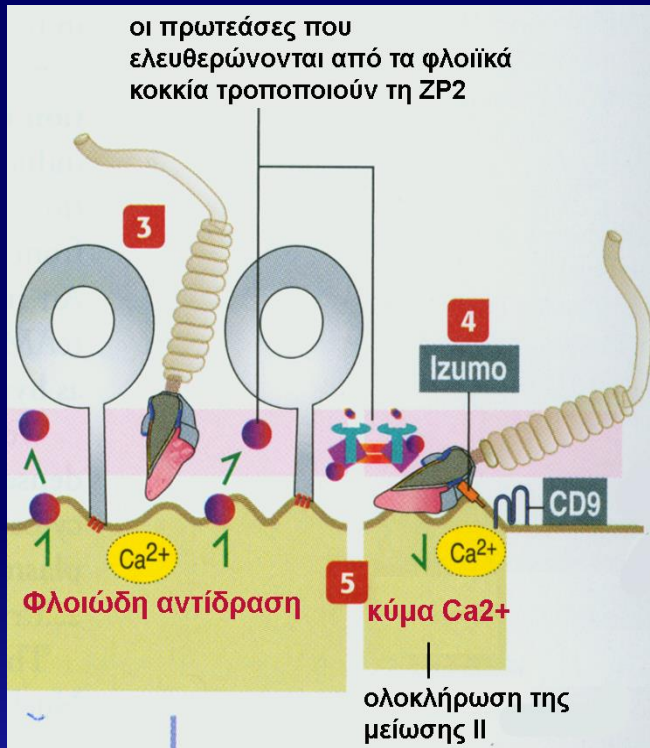
ολοκλήρωση της ανάφασης II,
τελόφασης II, κυτταροκίνησης



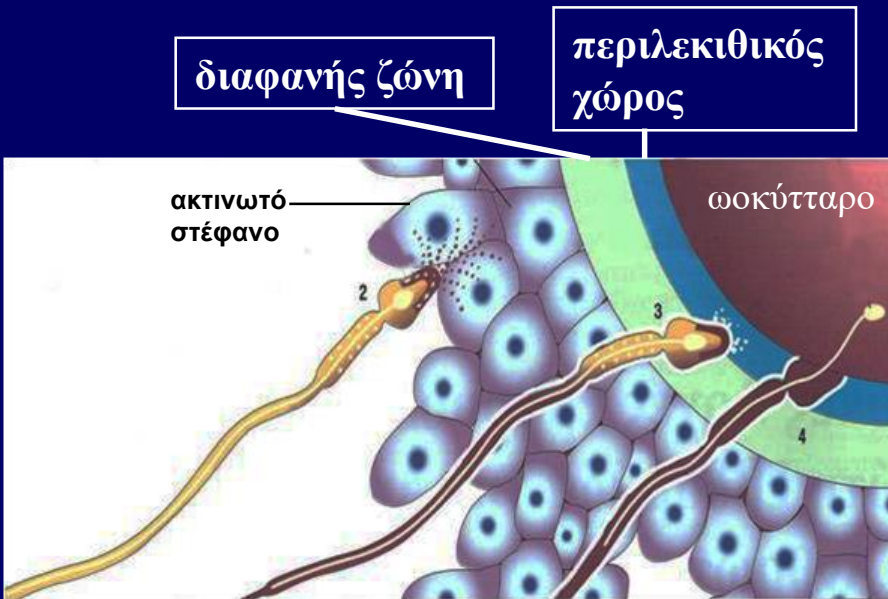
ώριμο ωοκύτταρο

+

2^ο πολικό σωματίο



Διείσδυση του σπερματοζωαρίου στο ωοκύτταρο

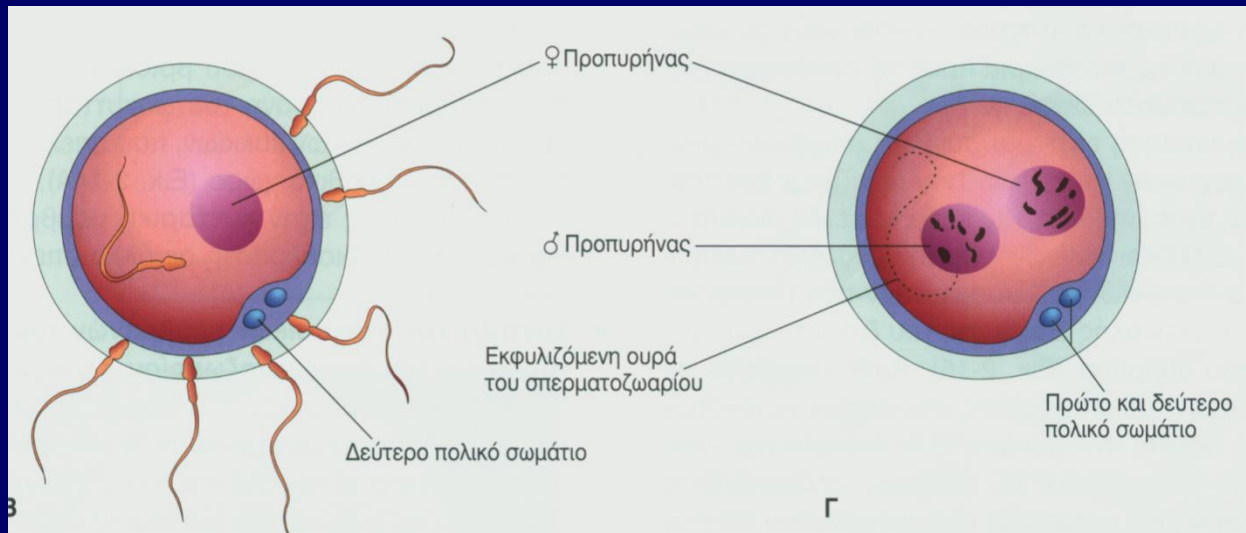


Με τη σύντηξη των κυτταρικών μεμβρανών, **διεισδύει** στο κυτταρόπλασμα του ωοκυττάρου, **η κεφαλή και η ουρά** του σπερματοζωαρίου **χωρίς** την κυτταρική του μεμβράνη και τα μιτοχόνδρια.

εισέρχονται

- **ο πυρήνας** —————> προπυρήνας σπερματοζωαρίου
- **το κεντρόσωμα** —————> οργάνωση μιτωτικής ατράκτου
- **το αξόνημα** —————> εκφύλιση

Σχηματισμός θήλυ και άρρενα προπυρήνα

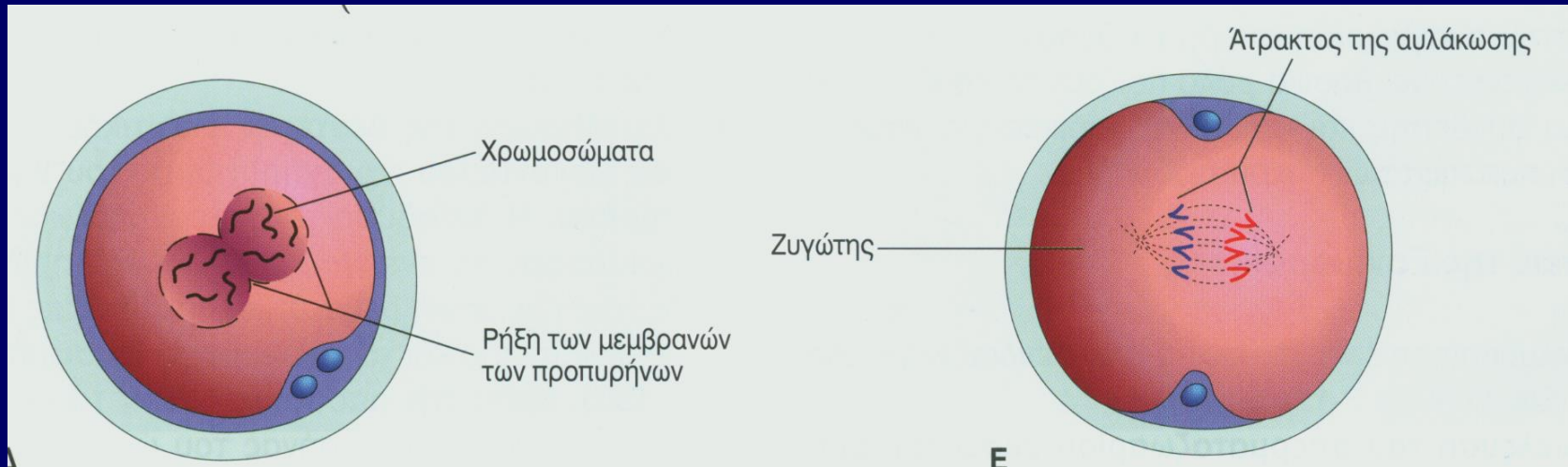


Θηλυκός προπυρήνας: αποσυμπύκνωση χρωμοσωμάτων, διπλασιασμός DNA (S φάση)

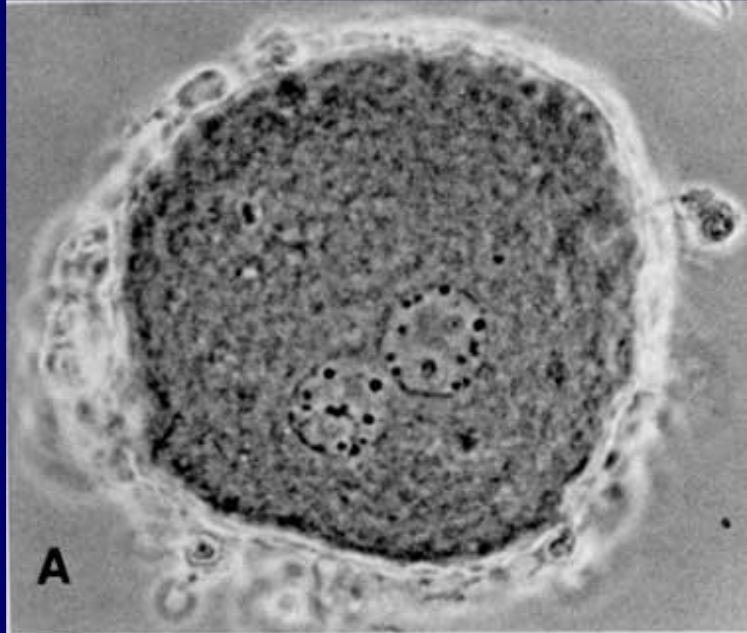
Αρσενικός προπυρήνας: βρίσκεται μέσα στο κυτταρόπλασμα του ωοκυττάρου (εμποτισμός) → αποσυμπύκνωση χρωμοσωμάτων, διπλασιασμός DNA (S φάση)

- Το ωοκύτταρο με δύο προπυρήνες: **ωοτίδα**
- *Μορφολογικά ο θηλυκός και ο αρσενικός προπυρήνας δεν είναι διακριτοί*

Συγχώνευση προπυρήνων - Ζυγώτης



- Αποδιάταξη πυρηνικών μεμβρανών →
1^η μιτωτική διαίρεση αυλάκωσης
↓
- **Μετάφαση:** Διάταξη των χρωμοσωμάτων
(αδελφές χρωματίδες ενωμένες στο κεντρομερίδιο)
στη μιτωτική άτρακτο (άτρακτος αυλάκωσης)
↓
- Ανάφαση – Τελόφαση – Κυτταροκίνηση
↓
- Ζυγώτης 2 κυττάρων**



Ωοτίδα: γονιμοποιημένο
ωοκύτταρο με δύο
προπυρήνες



Ζυγώτης δύο κυττάρων

Αποτυχία γονιμοποίησης

1. Μη πραγματοποίηση ή πρόωμη πραγματοποίηση αντίδρασης ακροσώματος
2. Ανεπαρκής έκφραση υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη του ωοκυττάρου (πχ. cd9)
2. Διαταραχή του μηχανισμού σύντηξης των γαμετών
3. Ανεπαρκής ή παθολογική διακύμανση των Ca^{2+} και αποτυχία εξωκυττάρωσης των φλοιϊκών κοκκίων
4. Ανεπαρκής συμπλήρωση της MII στο ωοκύτταρο
5. Ελαττωματική αποσυμπύκνωση χρωματίνης του σπερματοζωαρίου
6. Ελαττωματικός προπυρήνας λόγω:
 - Ελαττωματική επαναδιαμόρφωση της χρωματίνης (πολλαπλοί προπυρήνες)
7. Διαταραχή στο σχηματισμό/λειτουργία της μιτωτικής ατράκτου

<http://www.youtube.com/watch?v=BFrVmDgh4v4>

