

# Andrologie

Soňa Kloudová

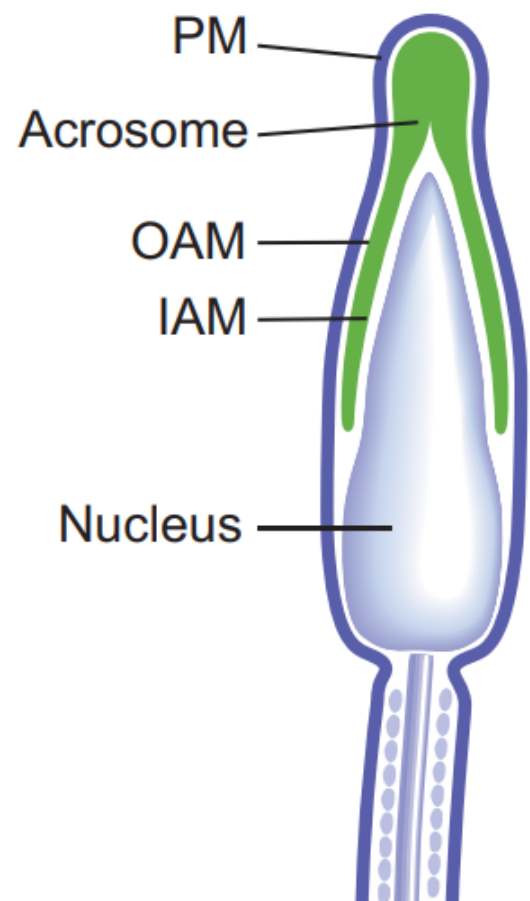
[sona.kloudova@med.muni.cz](mailto:sona.kloudova@med.muni.cz)

14.3.2023

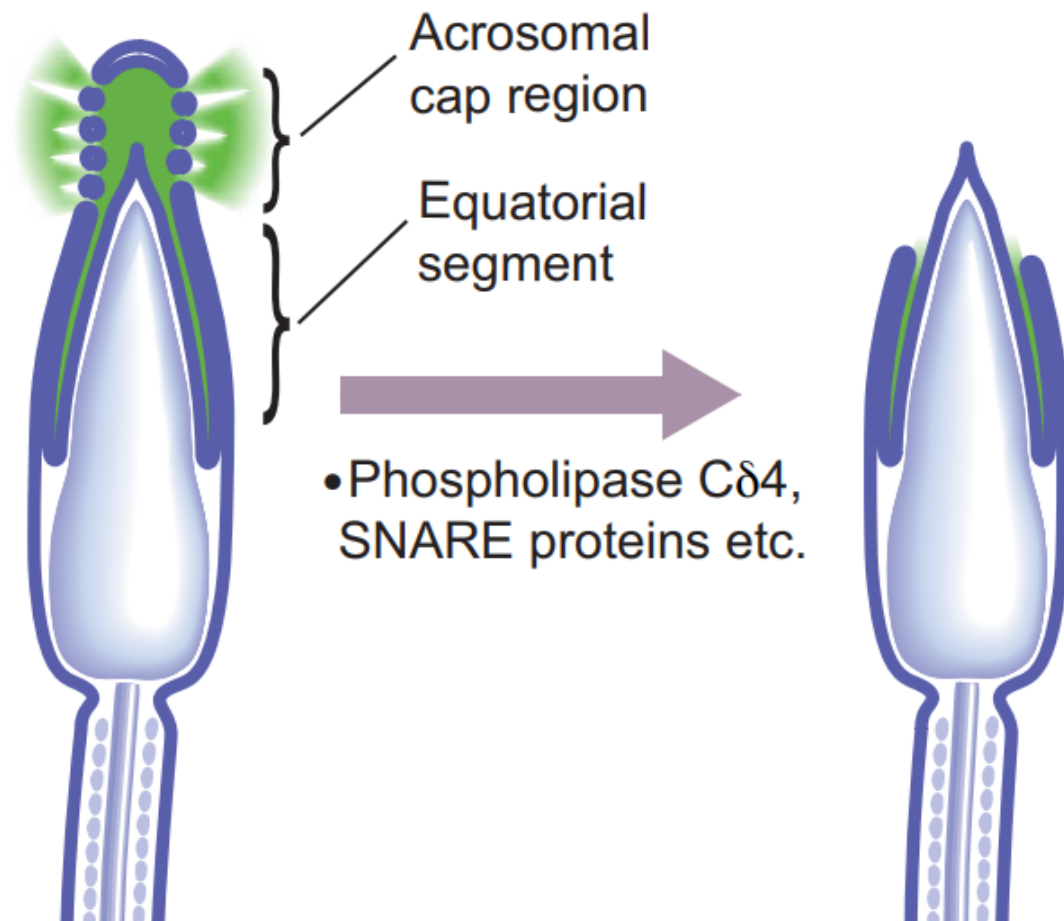
**B**

## Capacitation

## Acrosome reaction



- 
- Albumin-mediated cholesterol efflux
  - Removal of decapacitation factor?
  - Interaction with cumulus cells through cytokines?
  - $\text{Ca}^{2+}$  influx  $\uparrow$
  - Acrosomal pH  $\uparrow$
  - Soluble adenylyl cyclase  $\uparrow$
  - Protein kinase A and C  $\uparrow$
  - Tyrosine phosphorylation etc.  $\uparrow$



## Kapacitace

- Po maturaci v nadvarletí spermie stále zůstávají ve stavu, kdy nejsou schopny fertilizace
- V mužském těle zůstávají membrány spermií v klidovém stavu
- Odehrává se depozici spermií do ženského pohlavního traktu (nebo po jejich resuspendaci ve fertilizačním médiu)
- Různé fyziologické změny na hlavičce, střední části a bičíku
- Aktivace adenylát cyklázy, fosforylace tyrosinových zbytků proteinů spermií, aktivace PAK a PKC, odnětí cholesterolu z membrán- reorganizace lipidů v plasmatické membráně a zvýšení intracelulárního  $Ca^{2+}$ , změna membránového potenciálu
- Kapacitované spermie vykazují aktivní pohyb- hyperaktivace, která zahrnuje aktivaci proteinů **CatSper**
- Heterogenita spermií v suspenzi (kapacituje pouze určitá populace spermií → různá stadia kapacitace, degradace)

- **Glukóza** - zdroj energie pro kapacitace
  - umožňuje spermií fertilizovat oocyt
- **Glykolýza** -ATP
- Zásadní role v kapacitaci: cholesterol, hydrogenuhličitan,  $\text{Ca}^{2+}$  aj.
- Přesná molekulární podstata zatím neobjasněna
  
- Jakmile spermie zkapacitují → hyperaktivovaný pohyb (tlačná síla)-asymetrické kmitání bičíku, zvýšení intracelulárního  $\text{Ca}^{2+}$  - kontrolováno CatSper
  - aktivace progesteronem
- **Catsper** kanál -  $\text{Ca}^{2+}$ -permeabilní, pH-dependentní, nízkonapěťový kanál, esenciální pro hyperaktivaci, chemotaxi, kapacitaci a akrozomální reakci – aktivace zvýšením intracelulárního pH
- **Hydrogenuhličitanový anion** –jeho transport přes membránu spermií je elektrogenní,  $\text{Na}^+$  dependentní, zvyšuje pH, ovlivňuje cAMP metabolismus-stimulace adenylát cykláz → zvýšení koncentrace cAMP → aktivace PAK → fosforylace různých proteinů

Změny na membráně – rychlé (asociace s  $\text{HCO}_3^-$ /cAMP, PKA) a pomalé (eflux cholesterolu)

Časné změny: kolaps v a symetrii fosfolipidů (indukované hydrogenuhličitanovými ionty) - externalizace fosfatidylserinu a fosfatidylethanolaminu (skrambling, skrambláza) – reverzibilní, mediátorem je PKA

-předpoklad pro eflux cholesterolu (v médiu jej váže například BSA) → jedním z důsledků by mohlo být oslabení vazby povrchových proteinů a změna v ustáleném intracelulárním iontovém prostředí

Odnětí cholesterolu z membrány je předpokladem pro zvýšenou fosforylaci proteinů

Ztráta povrchových proteinů → odlišná organizace membrány (destabilizace membrány) → schopnost fuzovat s vnitřní akrozomální membránou, i s membránou oocyty, odhalení receptorů pro indukci akrozomální reakce

- **Změny v membránovém potenciálu** → iontové prostředí i iontové kanály samotné ovlivňují průběh motility, kapacitace, akrozomální reakce, regulaci intracelulárních messengerů
  - nadvarle – vysoká koncentrace  $K^+$ , nízká koncentrace  $Na^+$ , a  $HCO_3^-$
  - ženský pohlavní trakt - nízká koncentrace  $K^+$ , vysoká koncentrace  $Na^+$ , a  $HCO_3^-$

Hyperpolarizace – zvýšení intracelulárního negativního napětí

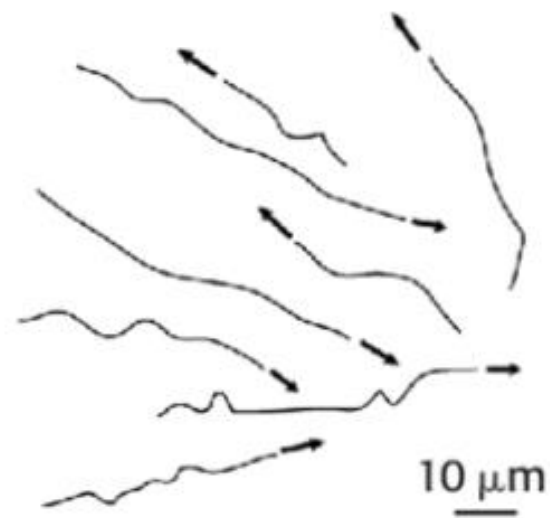
- regulace schopnosti produkovat intracelulární  $Ca^{2+}$

- **$Ca^{2+}$  dependentní proces**

- **Fosforylace proteinů** – o kinázách účastnících se procesů ve spermiích a o fosforylovaných proteinech je málo známo

- důležitá role-PKA a fosforylace tyrosinových zbytků proteinů

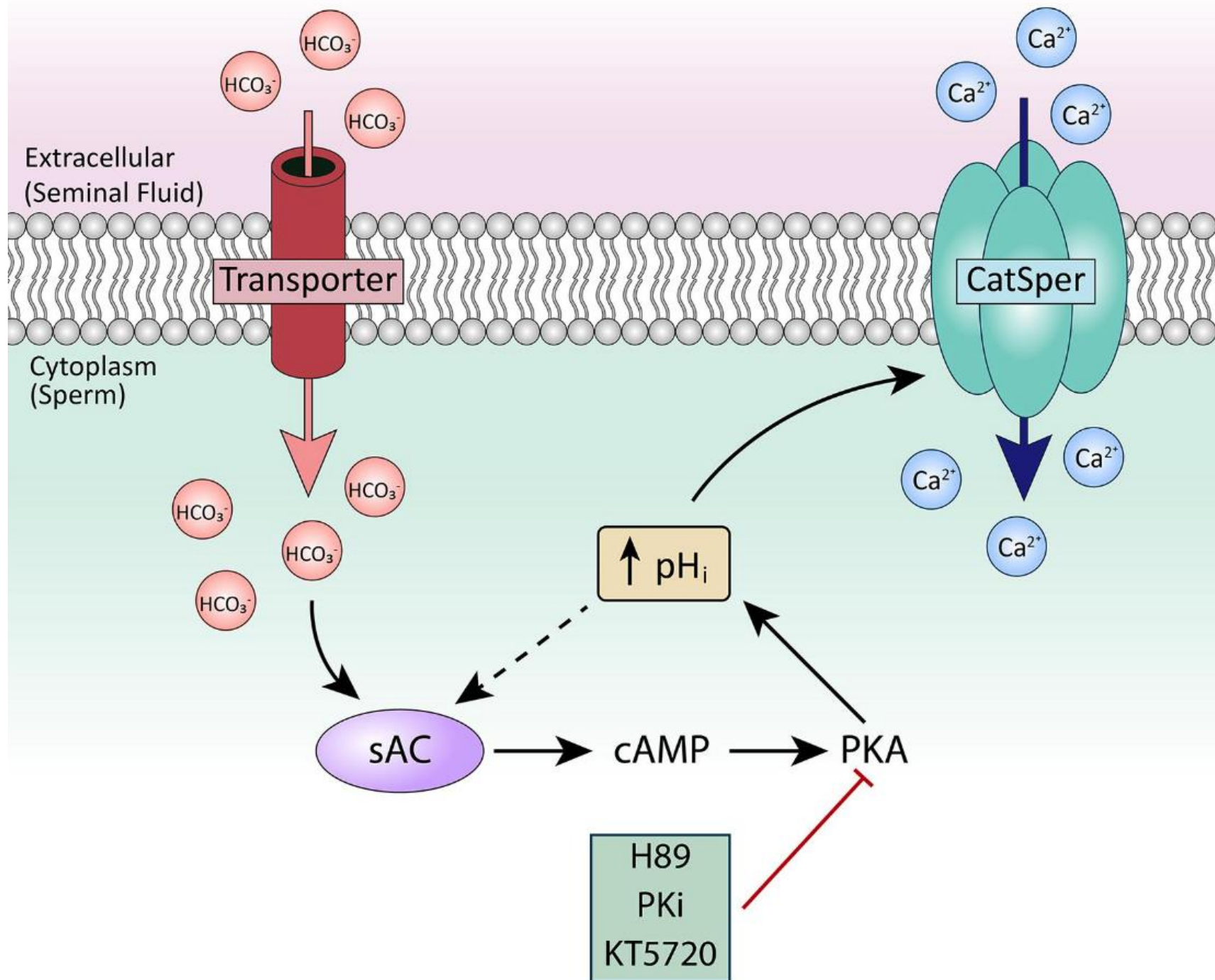
- **Hyperaktivace** – změny odehrávající se v oblasti bičíku
  - zásadní role AC a PKA, Catsper kanál
  - 90% ATP generováno anaerobními mechanismy
  - Změna progresivní motility na lokalizovanou energickou (předpokladem je, že typy pohybu spermie střídají v reakci na chemické stimuly → lokalizace oocyty); regulace odlišnými metabolickými drahami
  - Usnadnění spermií z rezervoáru oviduktu, průchod hledem v lumen oviduktu, průnik přes cumulus oophorus



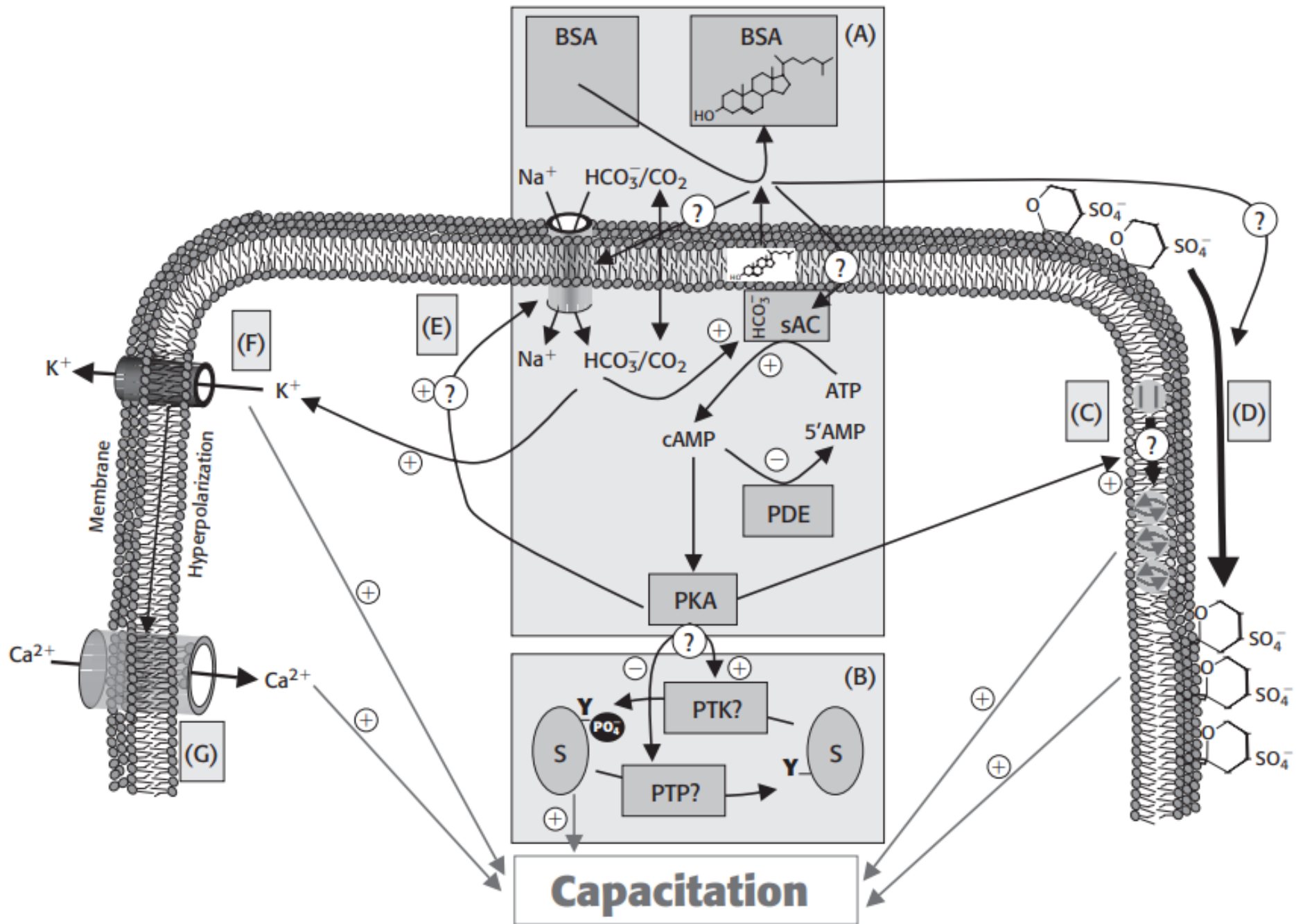
Non hyperactivated motility



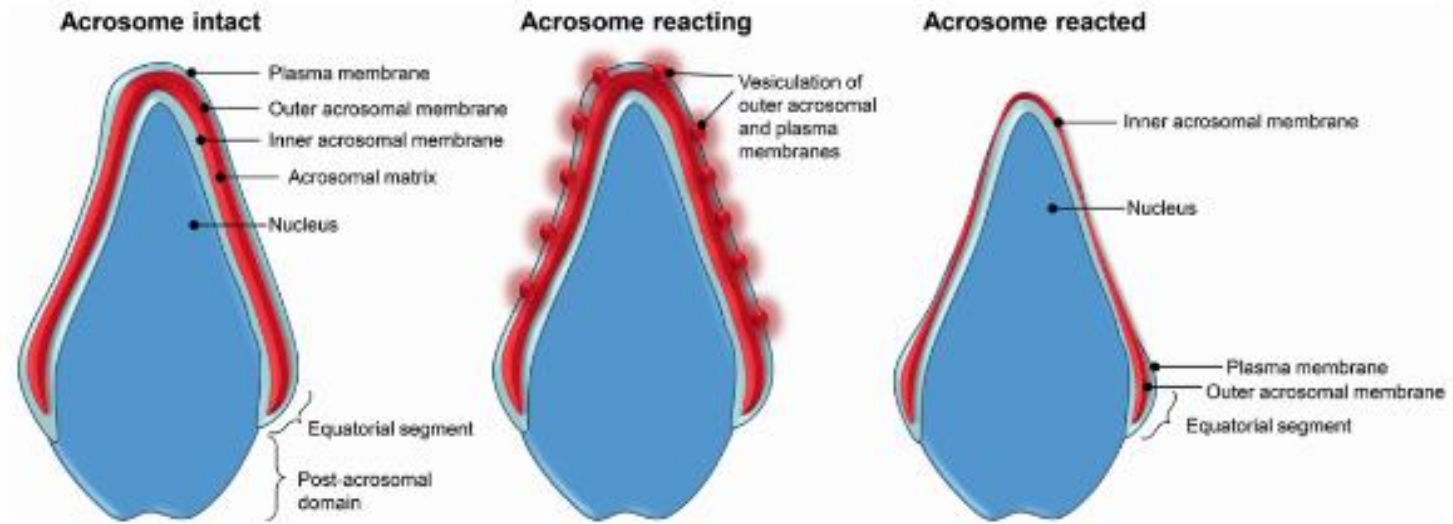
Hyperactivated motility



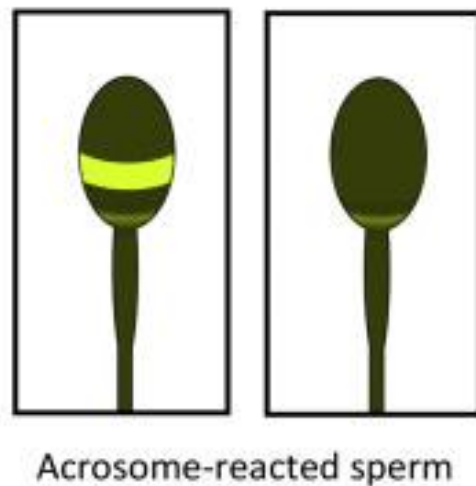
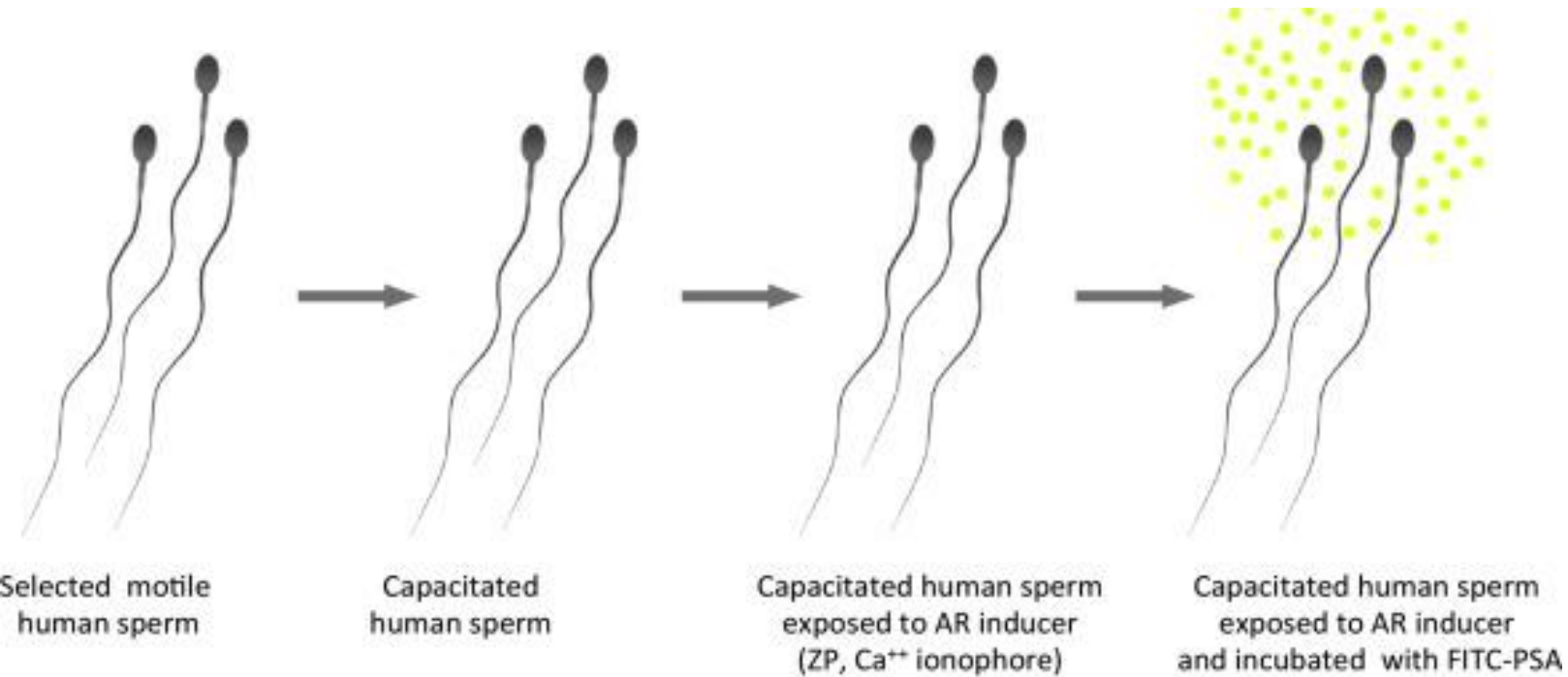




## Akrozomální reakce



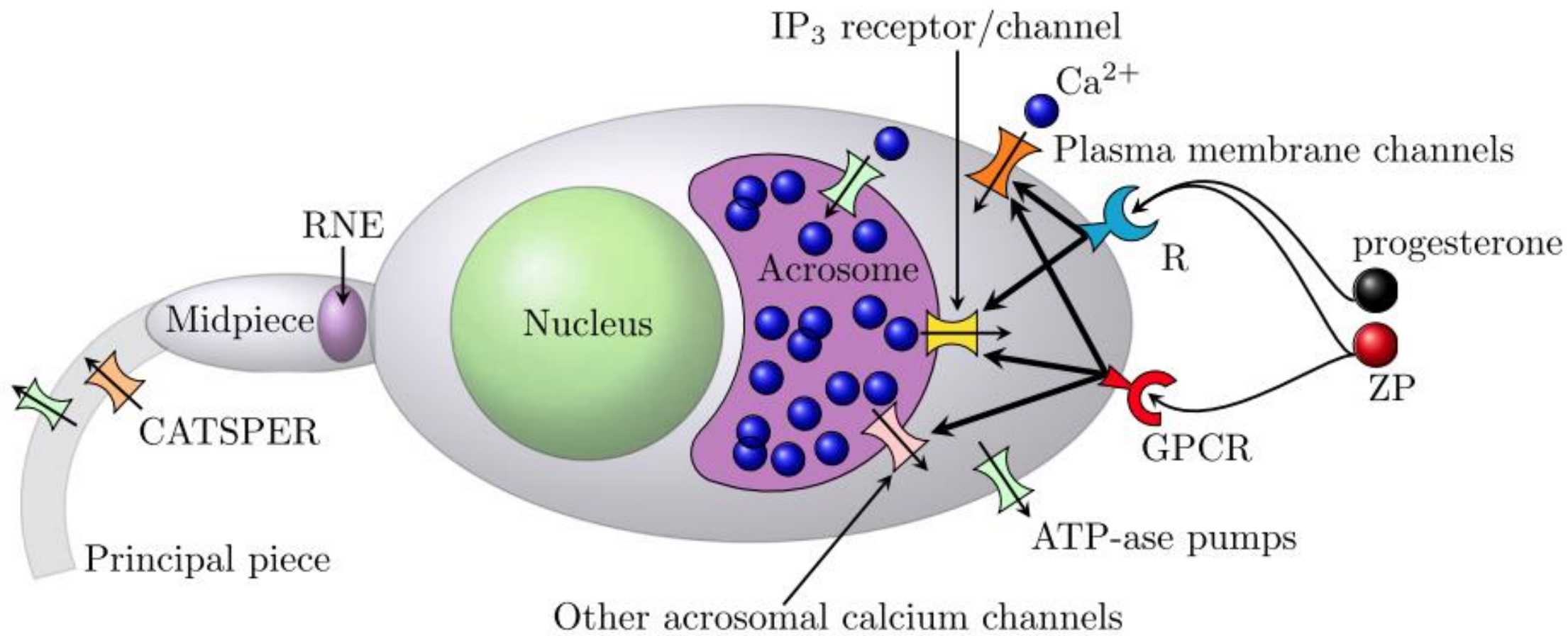
- Série morfologických změn během které se z akrozomu uvolňují různé proteiny a enzymy
- Proces splynutí vnější akrozomální membrány s plasmatickou membránou → exocytace akrozomu
- Proces zahrnuje aktivaci PKC a proteinů **SNARE** (fúze membrán)
- Proces vyžaduje influx  $\text{Ca}^{2+}$  iontů – kanály spřažené s G proteiny
- Indikace zakončení kapacitace
- Nezbytným předpokladem akrozomální reakce je kapacitace spermií
  
- Pouze spermie s reagovaým akrozomem může fertilizovat oocyt



Modulace AR:

- Ca<sup>++</sup> ionoforu A23187
- FITC-PSA (lektin pisum sativum)

spermie intaktní akrozomy,  
spermie s reagujícími akrozomy



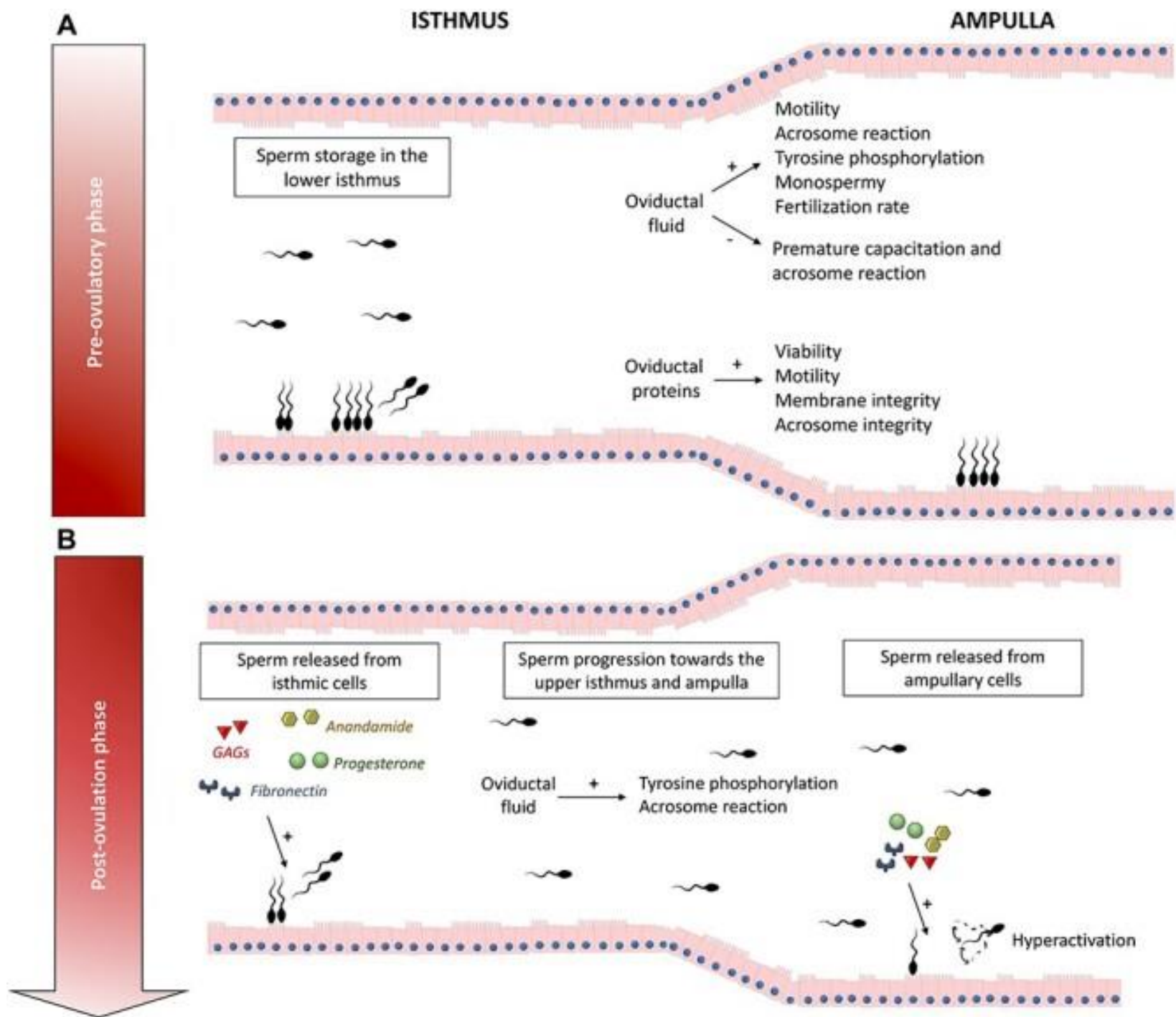
## Hypotézy jak kapacitace spouští akrozomální reakci:

- změna konformace receptoru- rozpoznávání specifickými agonisty, jako je zona pellucida a/nebo progesteron
- párování downstream signálních molekul s receptorem (downstream signalizace)
- ukotvení proteinů přímo souvisejících s exocytózou např. (SNARE)
- změny ve složení a architektuře lipidů plazmatické membrány → zvýšení fuzogenní povahy plazmatické membrány;
- změny potenciálu plazmatické membrány spermií (vliv na iontové kanály)
- kombinace všech těchto možností.

- K akrozomální reakci může dojít před setkáním se zónou pellucidou (u lidských spermií v 5-10%)
- Spouštěč: folikulární tekutina (progesteron), zona pellucida
- Receptory pro ZP: receptory spřažené s G proteinem nebo tyrosin kinázové receptory
- Změny v intracelulární koncentraci  $Ca^{2+}$  se projeví nejdříve v eqatoriálním segmentu → šíří se po celé hlavě
- ZP myši: ZP1, ZP2, ZP3
- ZP člověka -4 glykoproteiny: ZP1, ZP2, ZP3, ZP4 – mutace je jednou z příčin neplodnosti
- ZP1, ZP3 a ZP4 – vazba na kapacitovanou spermii s intaktním akrozómem
- ZP2 – vazba na spermii s reagovaným akrozómem, hraje klíčovou roli
- N- glykosylace proteinů ZP- důležitá role v indukci akrozomální reakce

## vejcovod: selektivní migrace spermií, přežití a získávání fertilizační schopnosti

- uterotubální spojení – výběr subpopulace spermií vstupující do vejcovodu
  - přítomnost vazebných míst pro spermie na luminálních **epiteliálních buňkách** ve vejcovodu - prodlužují životaschopnost spermií a hrají roli v omezení polyspermie
  - kontrakce vejcovodu, které podporují migraci spermií směrem k místu oplodnění v ampule
  - oblasti vejcovodu, které hrají různé role při regulaci fyziologie spermií a interakcí s epiteliálními buňkami vejcovodu
- 
- čas ovulace vs.hormonální prostředí - regulace uvolňování spermií z luminálních epiteliálních buněk a usnadnění kapacitace





## Fertilizace

Komplexní proces o několika krocích, kompletní asi za 24 hodin

Migrace přes kumulus

Adheze a penetrace

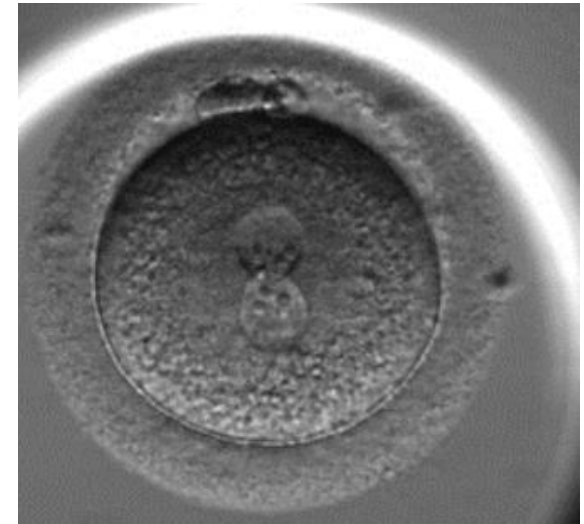
Fuze plasmatických membrán

Receptory: **Juno**, **Izumo**, **CD 9** tetraspanin

Aktivace oocyty a rychlý blok polyspermie

Degradace bičíku a mitochondrií spermií

Tvorba pronukleí → splynutí → zygota



Hlavní SOAF – **PLC $\zeta$**  →  $\text{Ca}^{2+}$  vlna –absence této vlny má za následek selhání oplození (nevytvoří se prvojádra)

umělé oplodnění – **kalcium ionofor A23187**, pokusy s injekcí PLC $\zeta$

PLC $\zeta$  - objevuje se u spermií během spermiogeneze ve fázi prodlužující se spermatidy

