

Andrologie

Soňa Kloudová

sona.kloudova@med.muni.cz

19.3.2024

Kapacitace

- Po maturaci v nadvarletí spermie stále zůstávají ve stavu, kdy nejsou schopny fertilizace
- V mužském těle zůstávají membrány spermií v klidovém stavu
- Kapacitace se odehrává po 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** (rodina kináz patřících mezi klíčové regulátory procesů vyžadujících práci cytoskelet) 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 spermiím fertilizovat oocyt
- **Glykolýza** - ATP
- Zásadní role v kapacitaci: cholesterol, hydrogenuhličitan, Ca^{2+} aj.
- Přesná molekulární podstata zatím neobjasněna
- Jakmile spermie zkapacitují → hyperaktivovaný pohyb (tlačná síla) - asymetrické kmitání bičíku, zvýšení intracelulárního Ca^{2+} - kontrolováno CatSper
-aktivace progesteronem
- **Catsper kanál** - 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, Na^+ dependentní, zvyšuje pH, ovlivňuje cAMP metabolismus - stimulace adenylátcykláz
→ zvýšení koncentrace cAMP → aktivace PAK → fosforylace různých proteinů

Změny na membráně – rychlé (asociace s 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^-

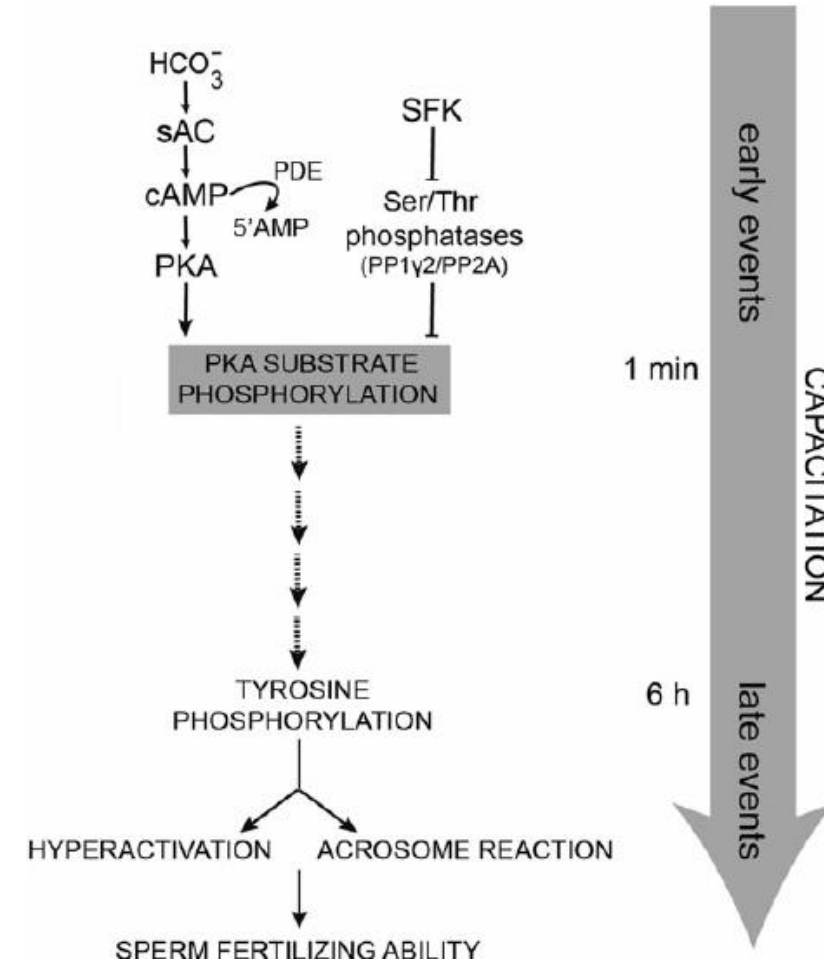
Hyperpolarizace –zvýšení intracelulárního negativního napětí

- regulace schopnosti produkovat intracelulární Ca^{2+}

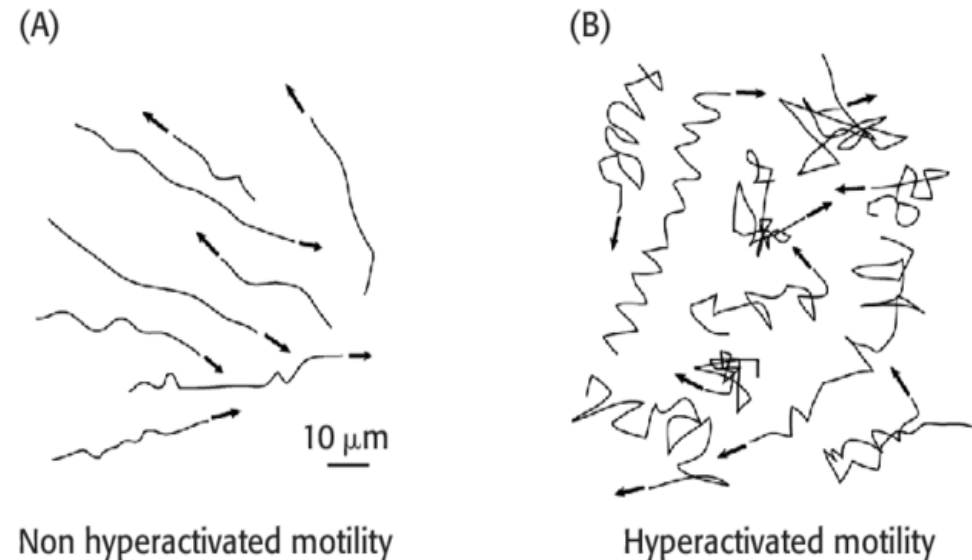
- **Ca^{2+} dependentní proces**

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

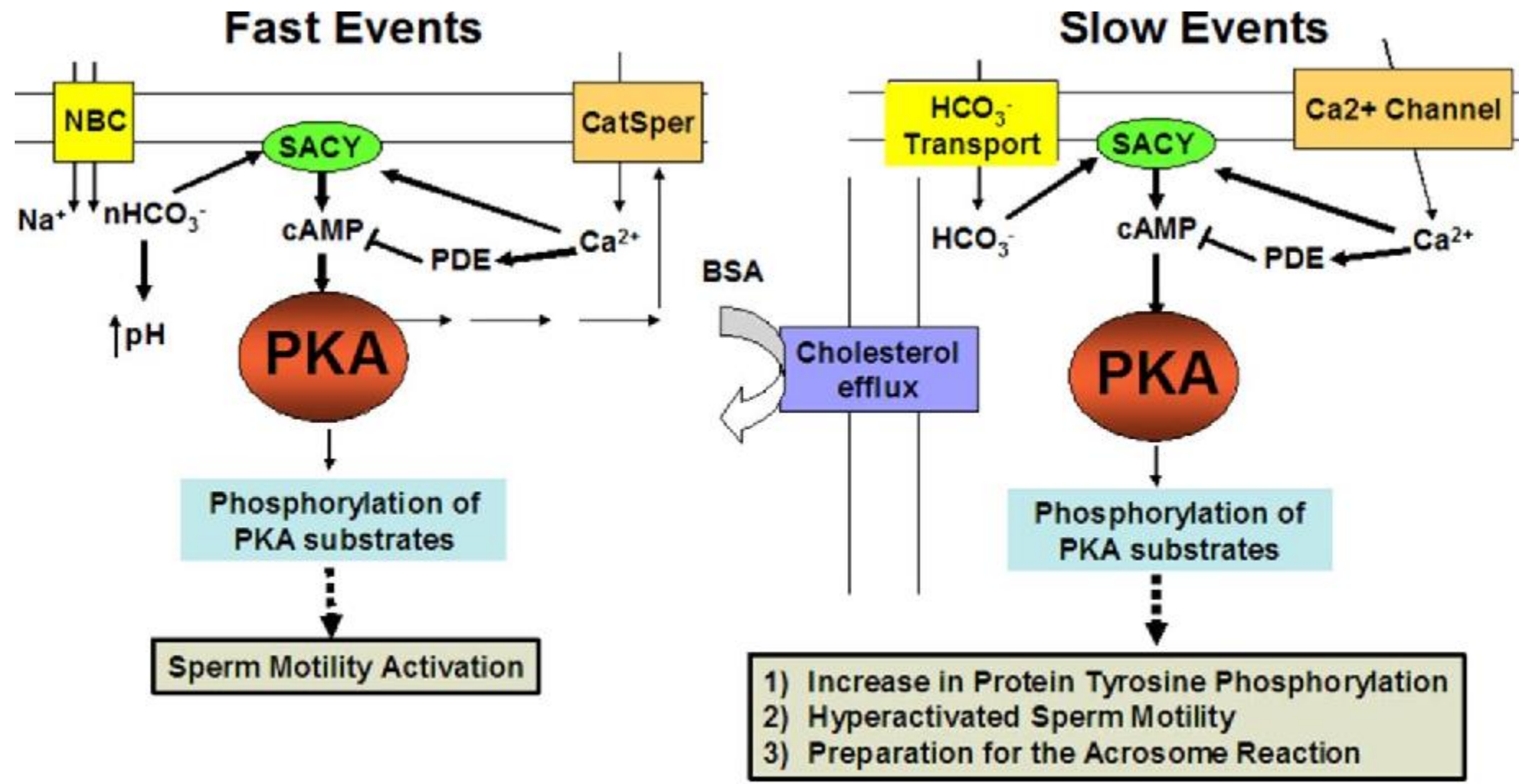
-důležitá role-PKA a fosforylace tyrosinových zbytků proteinů

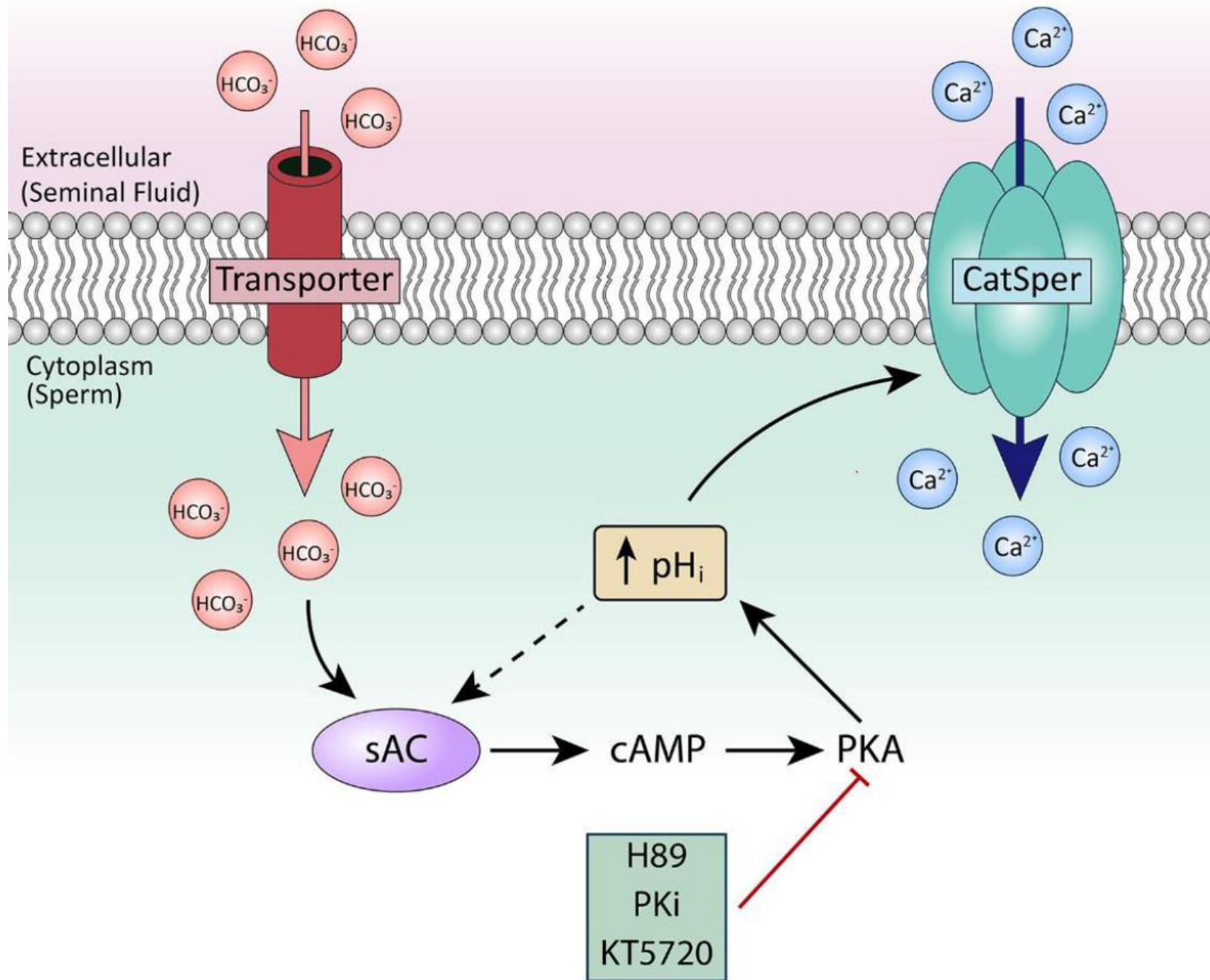


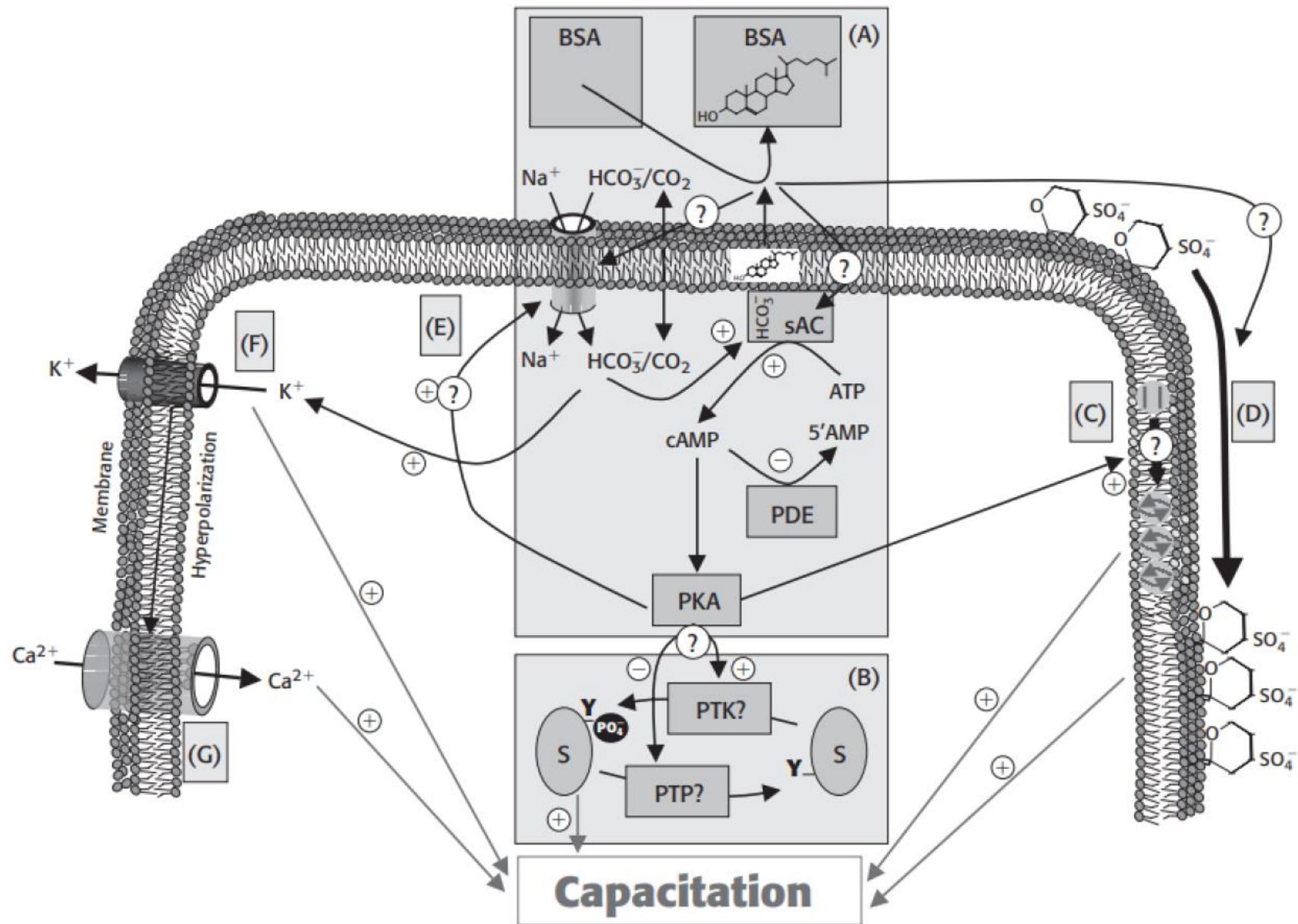
- **Hyperaktivace** – změny odehrávající se v oblasti bičíku
 - zásadní role **AC a PKA, Catsper kanál**
 - 90% ATP generováno anaerobními mechanismy
 - Změna progresivní motility na lokalizovanou energickou (předpokladem je, že se typy pohybu spermie střídají v reakci na chemické stimuly → lokalizace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



Jakmile jsou spermie v kontaktu s izotonickým roztokem obsahujícím HCO_3^- a Ca^{2+} , dojde k hyperaktivaci. Na molekulární úrovni tento proces závisí na zvýšení aktivity PKA a je zprostředkován Ca^{2+} a HCO_3^- koordinovanou stimulací atypické adenyl cyklázy SACY.



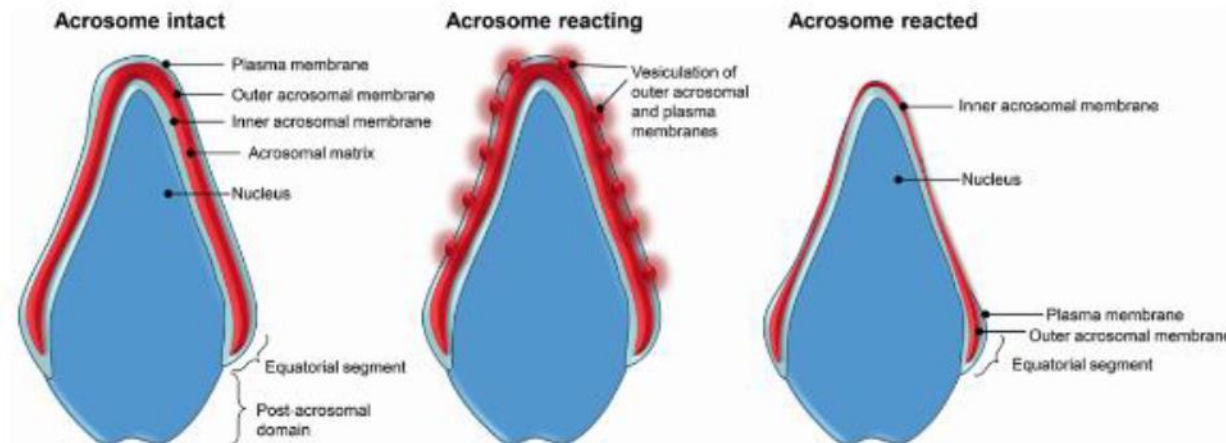


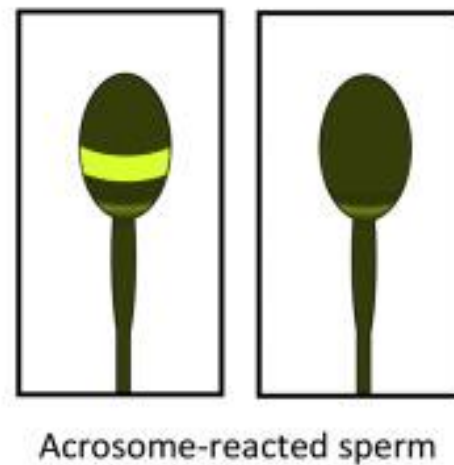
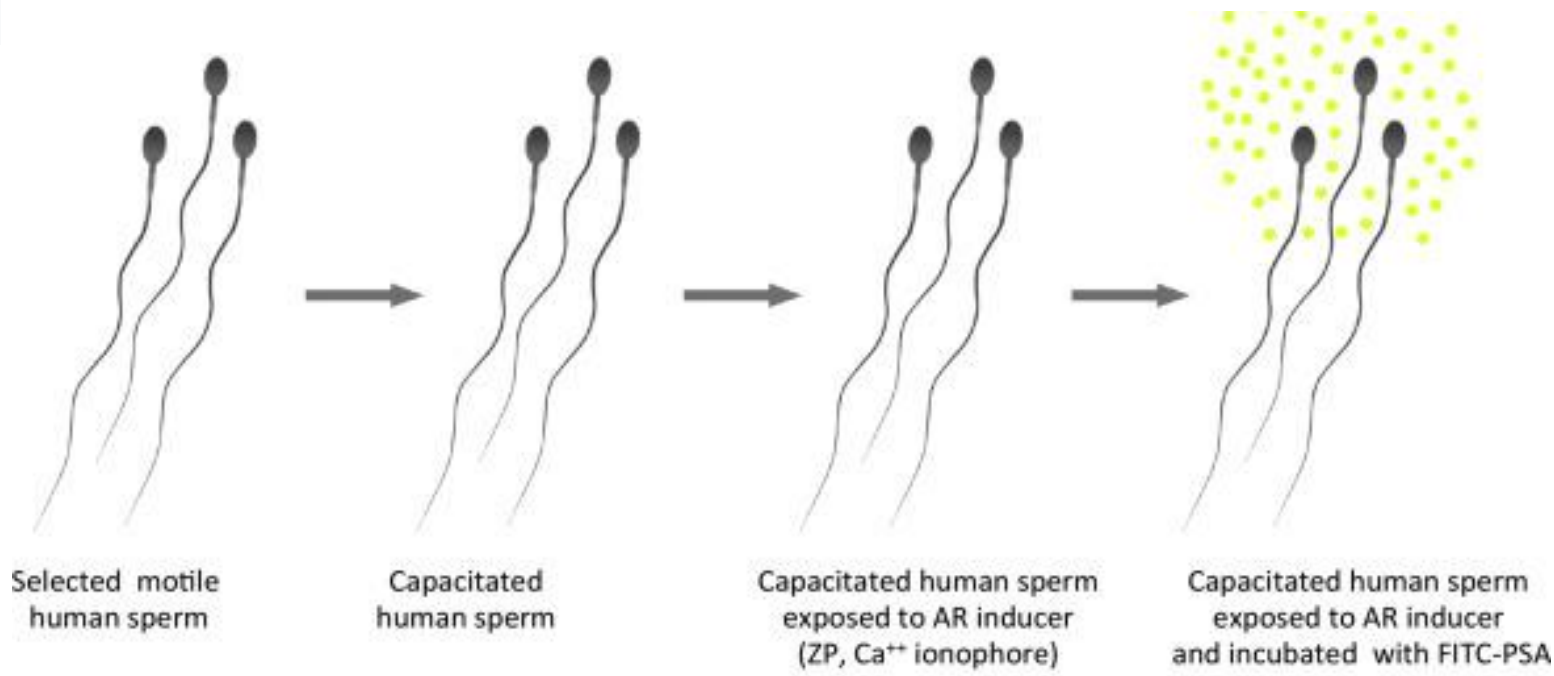


BSA indukovaná kapacitace

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** (rodina proteinů hrajících zásadní roli při splývání membránových váčků- fúze membrán)
- Proces vyžaduje **influx 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



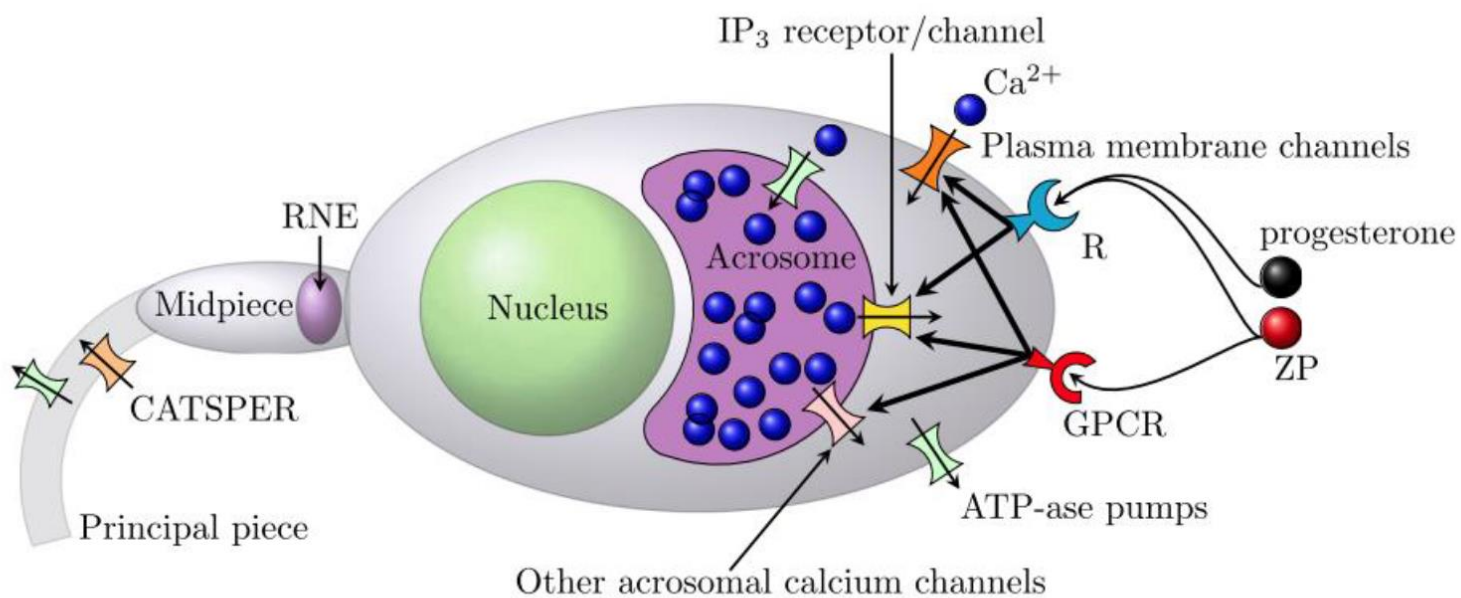


Modulace AR:

- Ca²⁺ ionofor A23187, ZP
- FITC-PSA (lektin pisum sativum konjugovaný s fluorescein isothiokyanátem – značí akrozom spermií)

spermie intaktní akrozomy,
spermie s reagujícími akrozomy

- **test plodnosti**: 2 typy defektů –
předčasná AR (více než 20% spermií
vykazuje spontánní AR), nebo
nedostatečná AR (špatná odpověď
na stimulaci AR)



akrozomální reakce se může spoléhat na více redundantních mechanismů, zabraňujících vstupu do oscilačního stavu a udržujících vysokou klidovou hladinu vápníku (nezbytná pro úspěšnou exocytózu akrozomu a v konečném důsledku i fertilizaci oocyty)

Hypotézy jak kapacitace spouští akrozomální reakci:

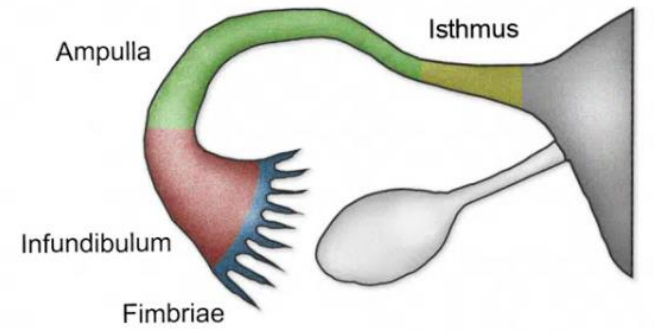
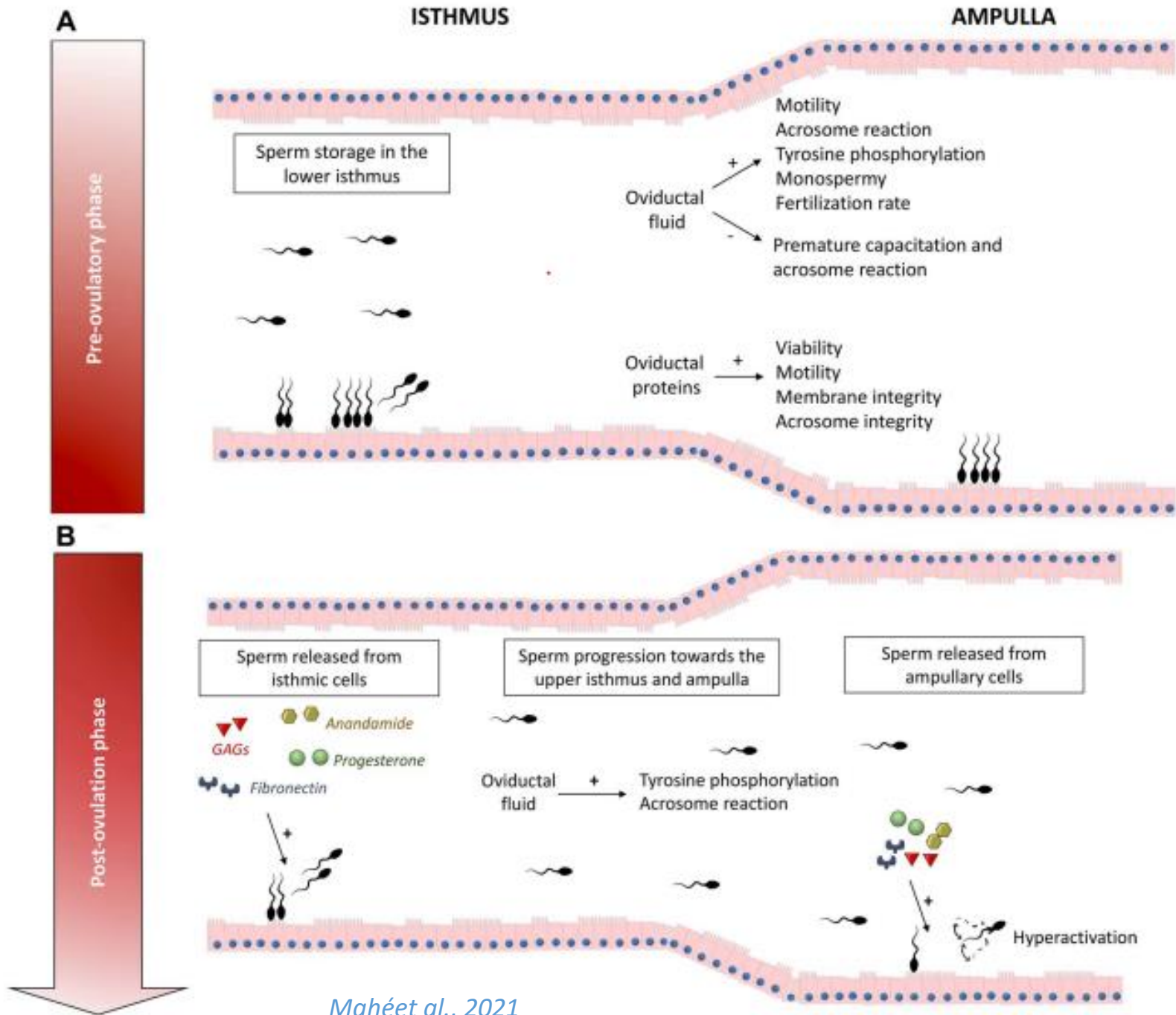
- změna konformace receptoru -rozpoznávání specifickými agonisty, jako je zona pellucidaa/nebo progesteron
- párování downstream signálních molekul s receptorem (downstream signalizace)
- ukotvení proteinů přímo souvisejících s exocytózou např. (SNARE)
- změny ve složení a architektuře lipidů plazmatické 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 zonou 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 ve snížení **polyspermie**
 - **kontrakce vejcovodu**, které **podporují migraci** spermií směrem k místu oplodnění v ampule
 - různé oblasti vejcovodu hrají různé role při regulaci funkcí spermií (v součinnosti s interakcemi s epitheliálními buňkami vejcovodu)
- čas ovulace vs. hormonální prostředí - regulace uvolňování spermií z luminálních epitheliálních buněk a usnadnění kapacitace

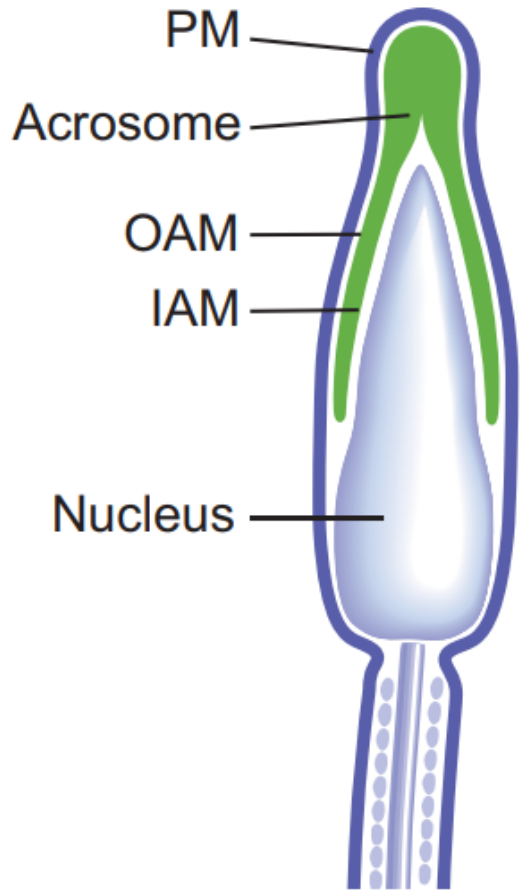


<https://teachmeanatomy.info/pelvis/female-reproductive-tract/fallopian-tubes/>

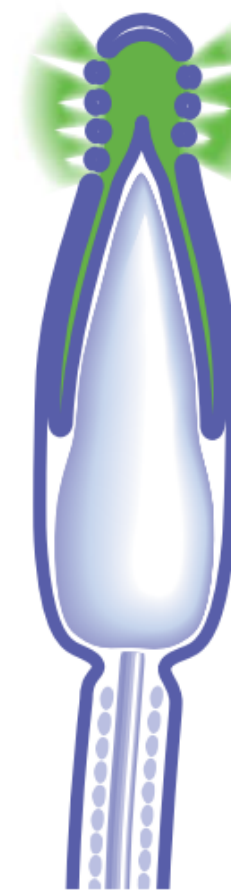
B

Capacitation

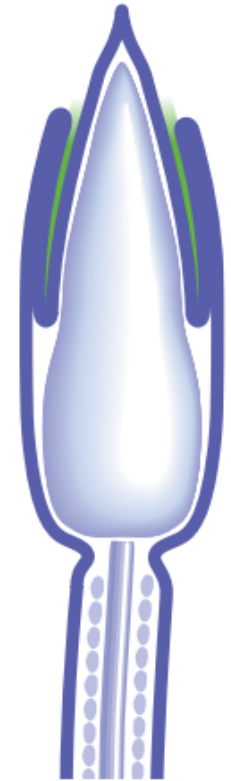
Acrosome reaction



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



- Phospholipase C δ 4, SNARE proteins etc.



Fertilizace

Komplexní proces o několika krocích, kompletní asi za 24 hodin

Migrace přes kumulus

Adheze a penetrace (spermie musí podstoupit AR, proziknout přes ZP a adherovat k membráně oocytu)

Fuze plasmatických membrán

Nezbytné receptory spermie: **Izumo 1** a **SPACA 6** (sperm acrosome membrane associated protein)

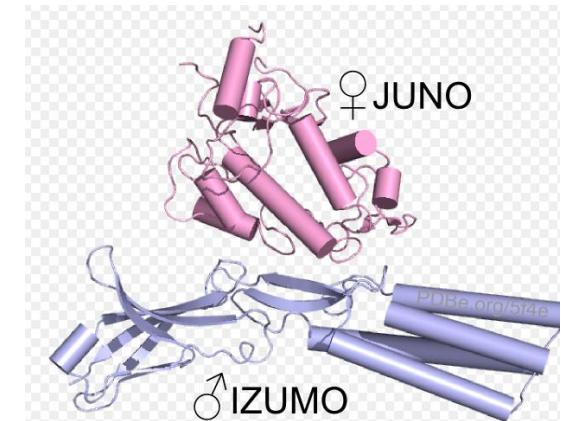
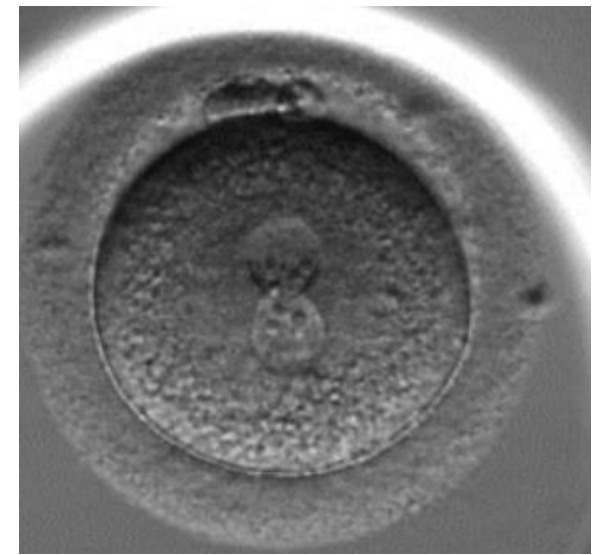
Nezbytné receptory oocytu: **Juno**, a tetraspaniny **CD9** a **CD81**

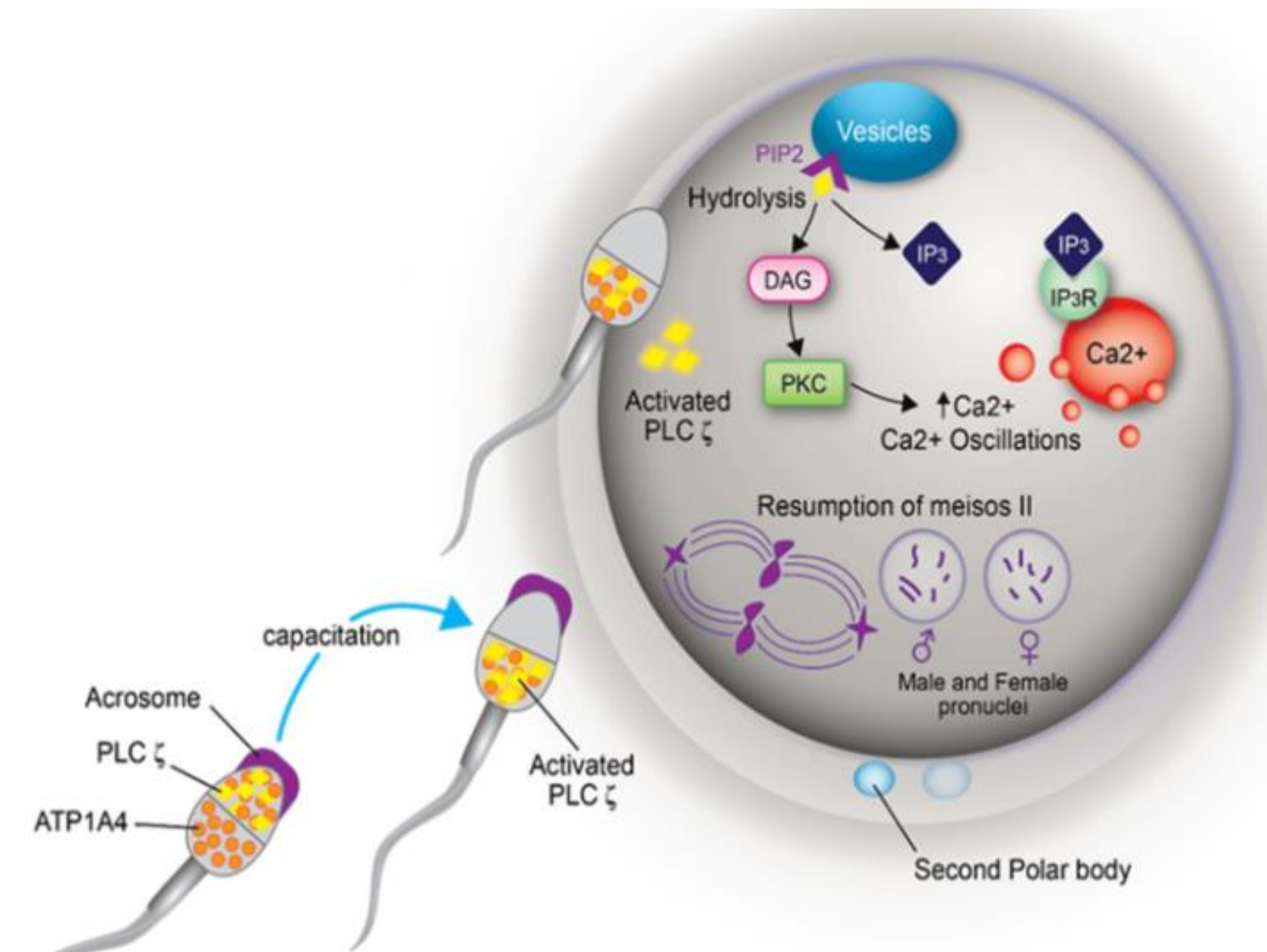
- aktivace oocytu a rychlý **blok polyspermie**
- **degradace bičíku a mitochondrií** spermií
- vorba **pronukleí** → splynutí → **zygota**

Hlavní SOAF – **PLC ζ** → Ca²⁺vlna –absence této vlny má za následek selhání oplození (nevytvoří se prvojádra)

umělé oplodnění – **kalcium ionofor A23187**, pokusy s injekcí PLC ζ

PLC ζ -objevuje se u spermií během spermiogeneze ve fázi prodlužující se spermatidy





https://www.google.cz/search?q=plc+zeta+sperm&tbm=isch&ved=2ahUKEwipcYHmkICFAxUL4rsIHRLRA6MQ2-cCegQIABAA&oq=plc+zeta+sperm&gs_l=ip=EgNpbWciDnBsYyB6ZXRhIHwZjTSPoZUPwHWOoXcAB4AJABAjgBTaABkAaqAQIxNbgBA8gBAPgBAYoCC2d3cy13aXotaW1nwgIGEAAYCBgewgIFEAAyGATCAggQABiABBixA8ICDRAAGIAEGIoFGEMYSQPCAgOQABiABBiKBRhDwgiHEAAyGAQYE8ICBhAAGB4YE8ICBBAAGB7CAgcQABiABBgYiAYB&scient=img&ei=uWr5ZenK4vE7_UPkqPmAo&bih=953&biw=1920&hl=cs#imgsrc=pOzDfS_i95m-6M

