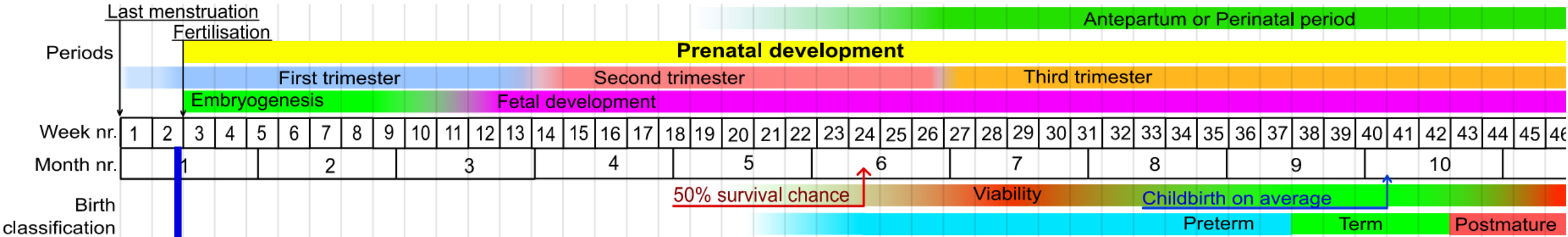


**M U N I**  
**M E D**

# **Klinická reprodukční fyziologie. Časný embryonální vývoj.**

Xenie Budínská

# Úvod



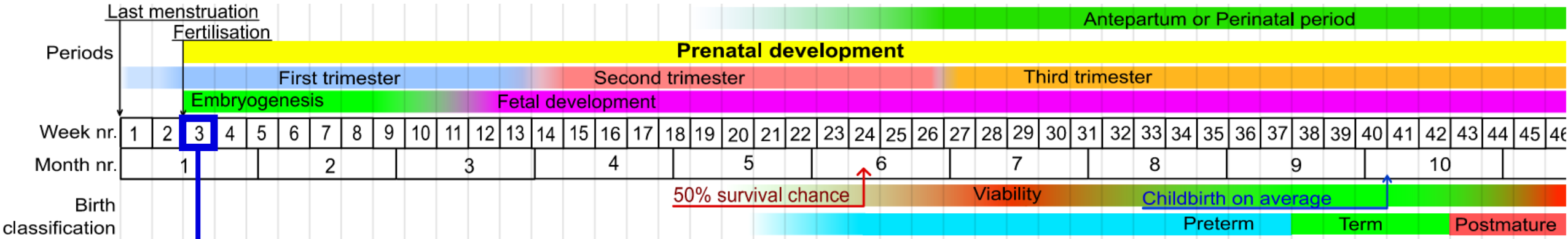
– 14. – 15. den:

– GnRH=>↑LH<=E

– „intraovariální“ tekutina+metaloproteinázy=>ovulace

– fertilizace

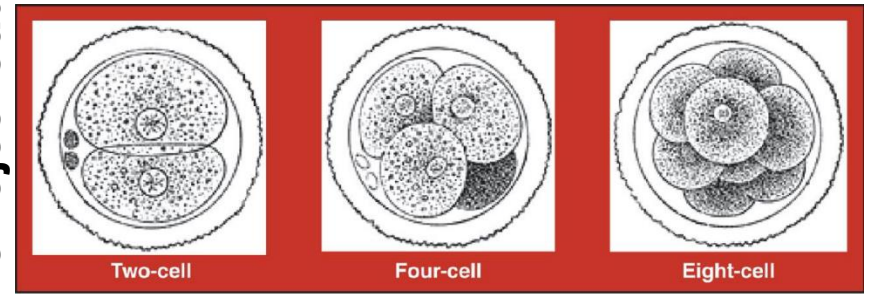
# Úvod



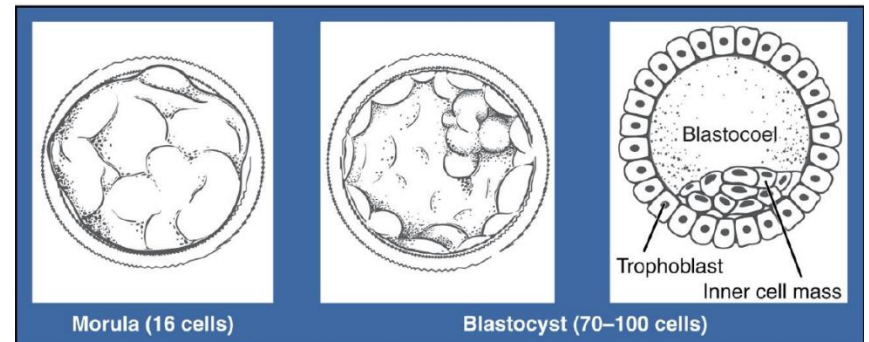
– Časný vývoj embrya (začíná oplozením oocytu spermií a končí těsně před implantací embrya)

– Zygota => Morula => Blastocysta

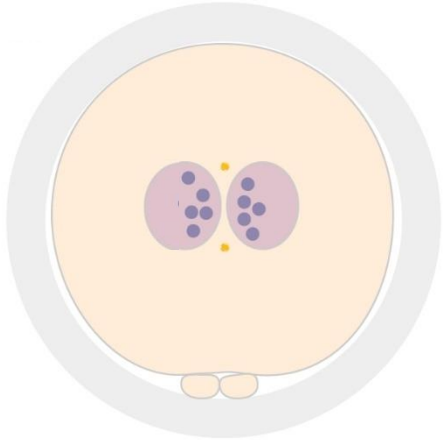
ve vejcovodu



v děloze



# Stadium jednobuněčné zygoty

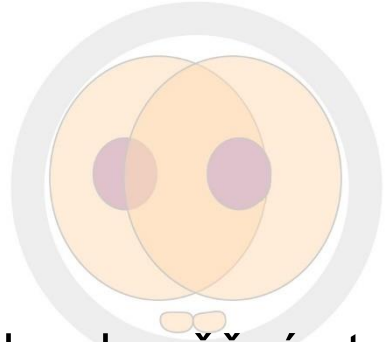


- průměr 110 $\mu$ m
- Jednotná cytoplazma, dvě prvojádra
- 4–8 prenukleolů v každém prvojádru
- prenukleoly uložené v sousedství druhého prvojádra (menší riziko aneuploidie)

# Aneuploidie

- genomová mutace, kdy dochází k chybění nebo nadbytku chromozomů
- Autozomální aneuploidie:
  - Patauův syndrom – trisómie 13. chromozómu.
  - Edwardsův syndrom – trisómie 18. chromozómu.
  - Downův syndrom – trisómie 21. chromozómu.
- Gonozómální aneuploidie
  - Turnerův syndrom – stav, kdy má jedinec jen gonozóm X, gonozómální aneuploidie.
  - Klinefelterův syndrom – gonozómy jsou doplněny o druhý chromozóm X – XXY.
  - Superfemale – aneuploidie samičího gonozómu – XXX, takto postižení jedinci se nazývají „nadsamice“.
  - Supermale – aneuploidie samčího chromozómu – XYY, takto postižení jedinci se nazývají „nadsamci“.
- Chromozomální mozaiky
  - Mozaická forma Turnerova syndromu

# Dvoubuněčné až osmibuněčné stadium

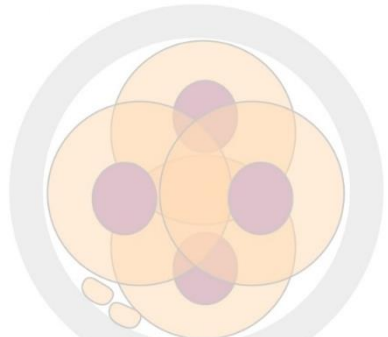


dvoubuněčné stadium

– **20–25h** po oplození proběhne **první mitotické dělení**

– **objem zygoty je stejný, blastomery se zmenšují**

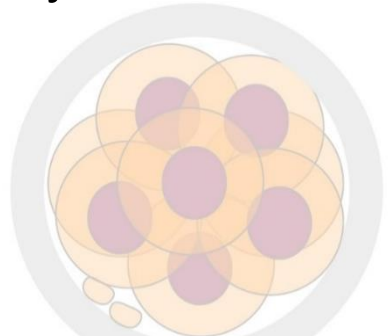
– **do osmibuněčného stádia** jsou buňky totipotentní\*  
**(období transkripčního klidu)**



čtyřbuněčné stadium

– **3. den osmibuněčná zygota vstupuje do děložní dutiny**

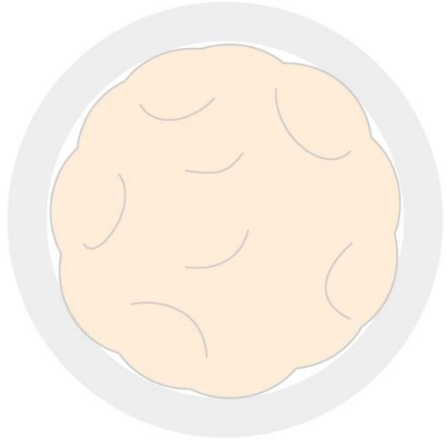
*\*Totipotentní SC (stem cells – kmenové buňky) mohou vytvořit celého nového jedince (embryoblast i trofoblast). Jsou přítomné v období transkripčního klidu do 3. dne vývoje.*



osmibuněčné stadium

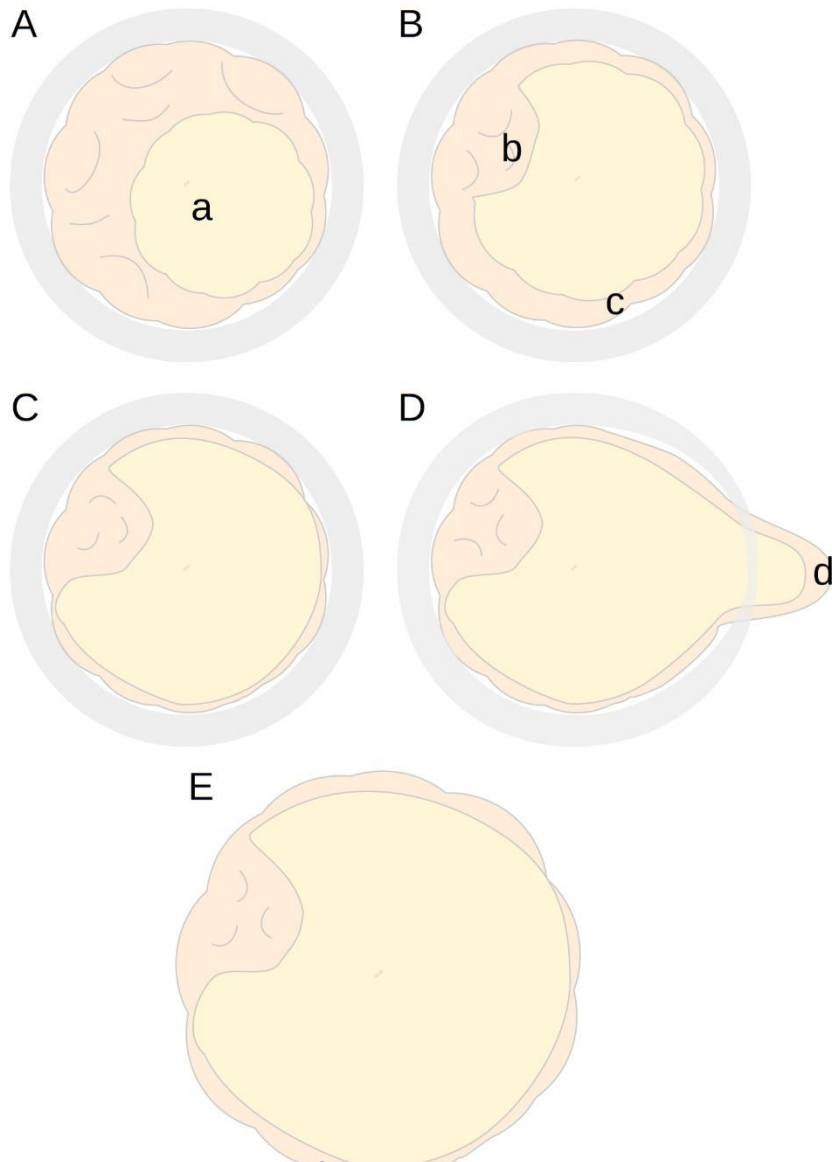
*Trávník P. Klinická fyziologie lidské reprodukce. 1. vydání, 2022.*

# Kompakce embrya



- 3.–4. den po oplození proběhne aktivace embryonálního genomu
- **kompaktní morula** (16+ buněčné stadium)
- E-kadherin (endoteliální)
  - adhezní spoj, důležitý pro vývoj blastuly
  - koreluje s rakovinou žaludku, prsu, štítné žlázy, vaječníků, tlustého střeva a konečníku
- mitochondrie

# Vývoj blastocysty

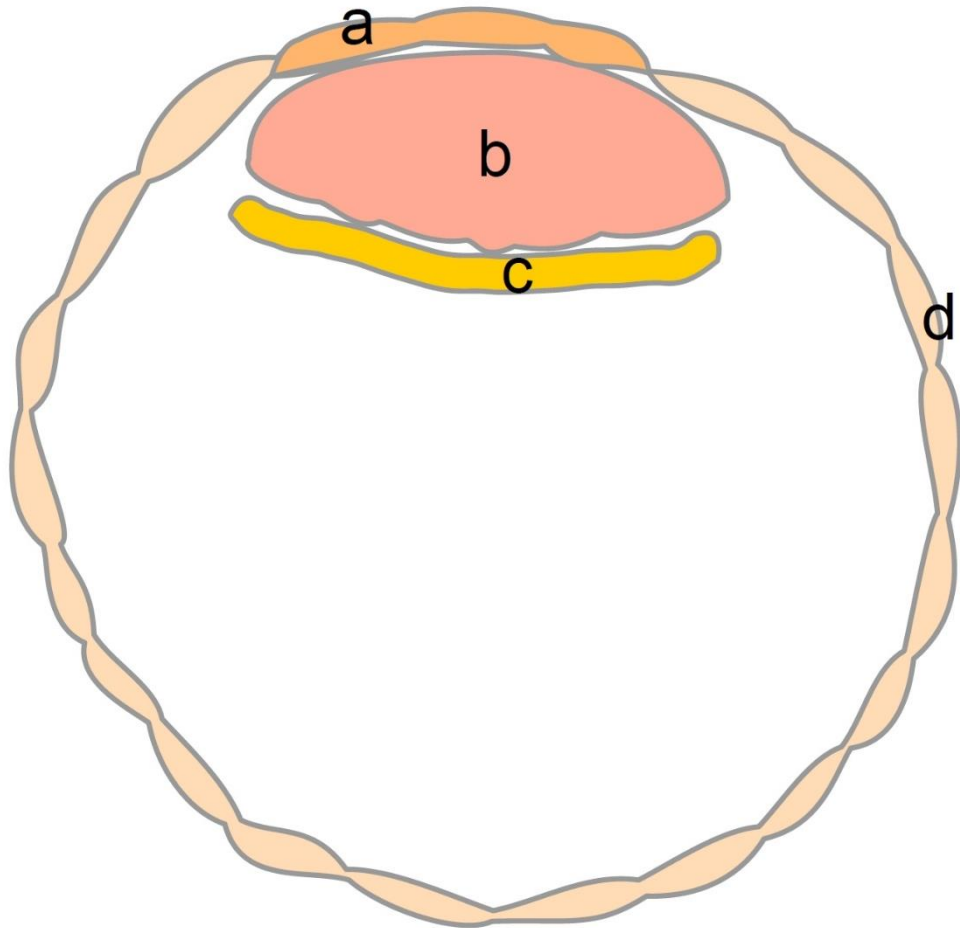


- A – časná blastocysta
  - B – vyvinutá blastocysta
  - C – expandující blastocysta
  - D – klubající se blastocysta (hatching)
  - E – nahá blastocysta
- a – blastocél
  - b – embryoblast
  - c – trofoblast

d – protruze trofoblastu zónou jako začátek klubání



# Blastocysta v závěrečné fázi preimplantačního vývoje



a. polární trofektoderm (trofoblast)

b. epiblast

c. hypoblast

d. parietální trofektoderm (trofoblast)

# Epigenetické reprogramování

- vymazání původní epigenetické informace a k novému programování genomu
- **methylace DNK** v chromosomech
- modifikace histonů, a s tím spojená modifikace chromatinu
- RNA interference
- aktivace embryonálního genomu – **3.den vývoje** (nezávisle na dosaženém buněčném stadiu)

# Metabolismus embrya

– zdroj energie – **Krebsův cyklus**

– časná stadia – cyklus kyseliny citronové a oxidativní fosforilace s pyruvátem

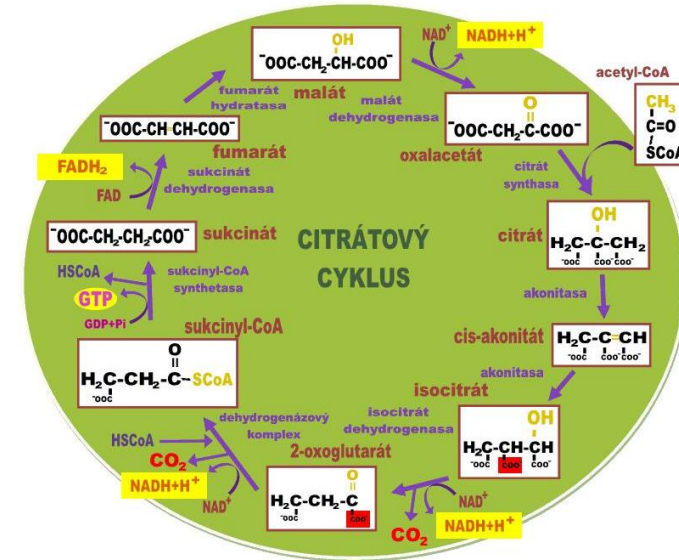
– po formování blastocysty – glukóza

– Warburgův efekt (pyruvát je metabolizován na laktát, podporuje rychlé buněčné dělení)

– NADPH (meziprodukt E metabolismu):

– koenzym řady metabolických cest (homocystein)

– regenerace glutationu



# Metabolismus embrya

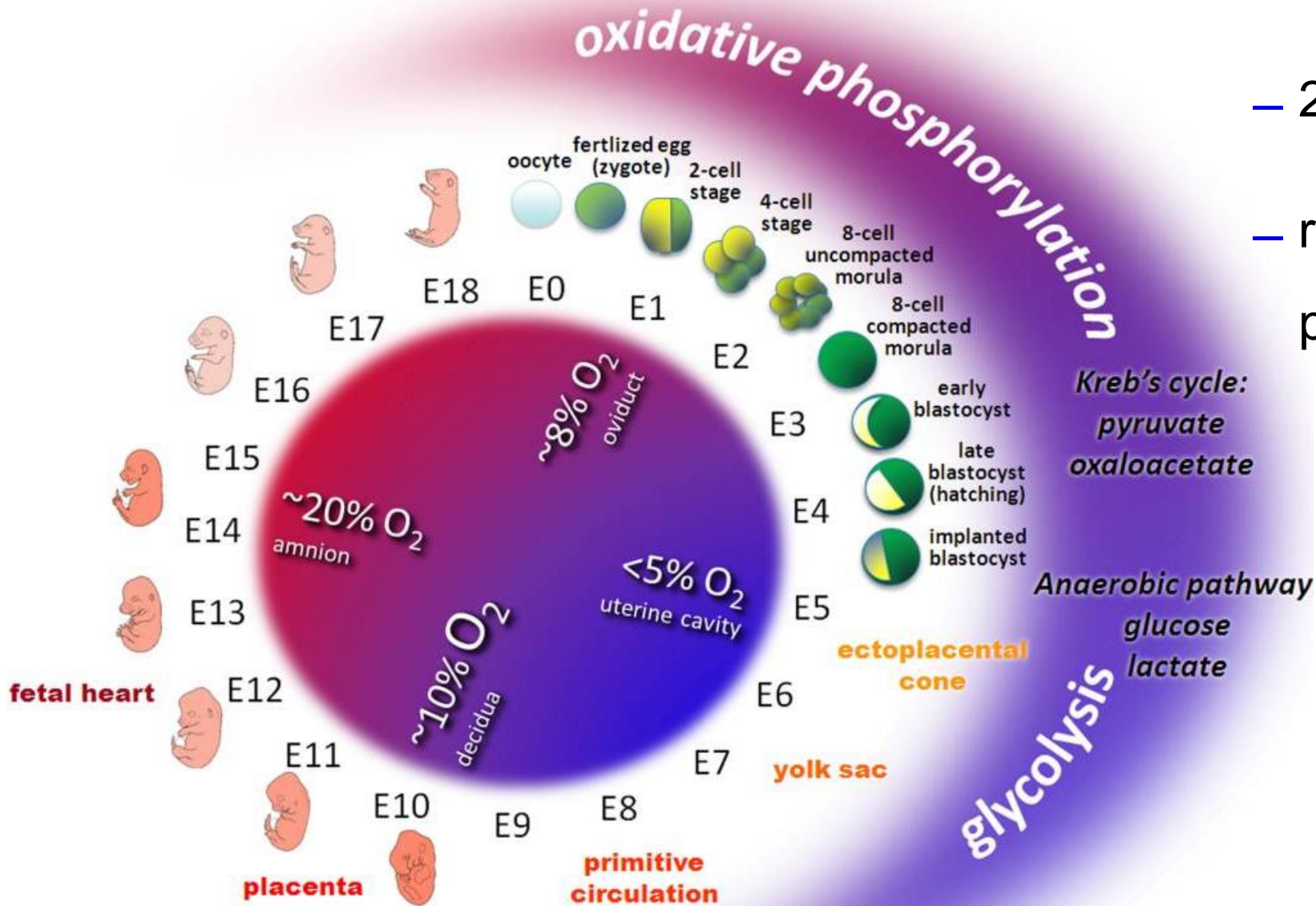
## – aminokyseliny:

- proteosyntéza a syntéza signálních molekul
- osmolyty
- součást pufrového systému
- zdroj E
- antioxidanty

## – lipidy

- součást buněčných membrán
- syntéza karnitinu (nejsou exprimovány enzymy)

# Metabolismus embrya



– 2 – 8 % O<sub>2</sub>

– redukčně oxidační potenciál prostředí je -100μV

# Metabolismus embrya

## – ionty a stopové prvky:

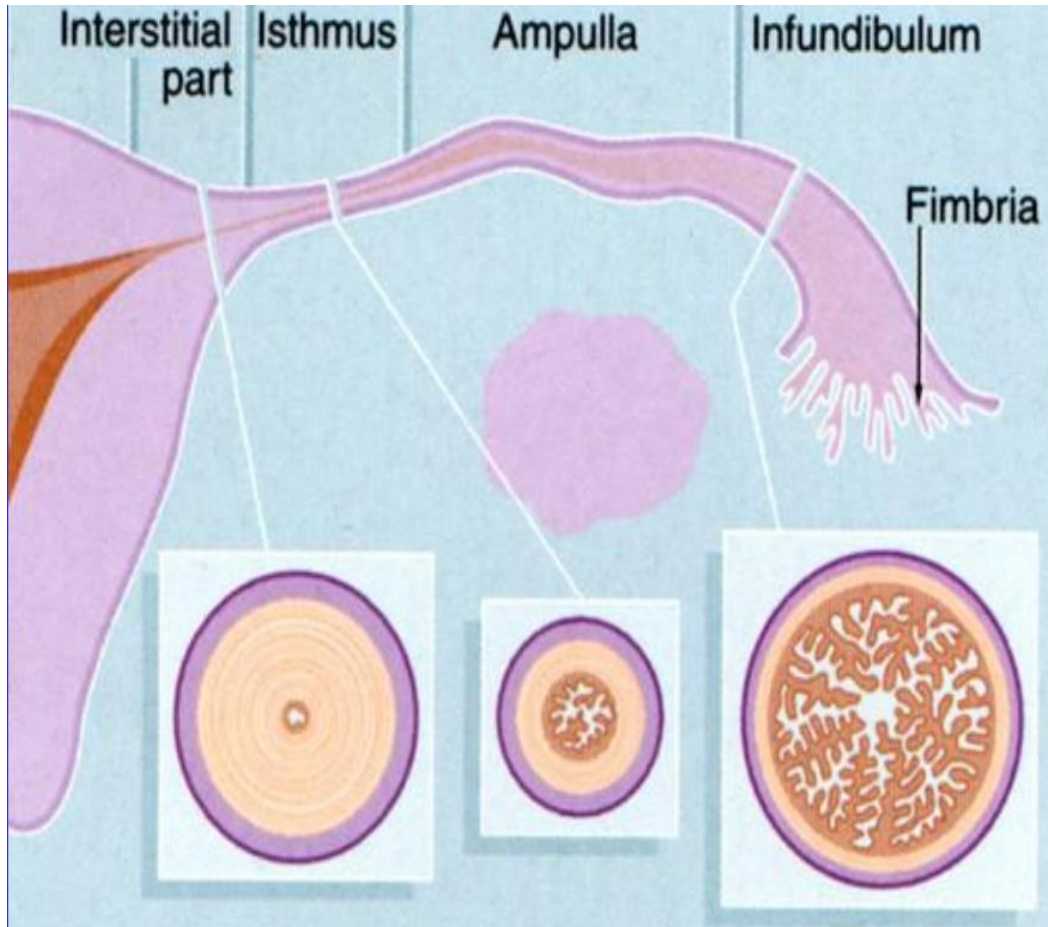
- $\text{CO}_2$  a  $\text{HCO}_3^-$  (pufr, odstranění amoniaku, produkt metabolismu)
- Ca a Mg (kofaktory enzymů, nezbytné pro mezibuněčná spojení)
- Zn (esenciální, kofaktor enzymů, antioxidant)

## – vitaminy:

- B skupina ( $\text{B}_{6,9,12}$  růst, vaskulogeneze a senescence embryonálních kmenových buněk)
- A (teratogenní, kraniofaciální anomálie)

## – odpadní látky ( $\text{CO}_2$ a $\text{NH}_3$ )

# Vejcovody



## – stěna vejcovodu:

### – *tunica mucosa*

*Plicae mucosae (slizniční řasy)*

*Lamina epithelialis (cylindrické buňky s řasinkami, sekreční buňky, lamina propria mucosae)*

### – *tunica muscularis*

*Stratum cirkuláře – kruhová vrstva*

*Stratum longitudinale – podélná vrstva*

### – *tela subserosa*

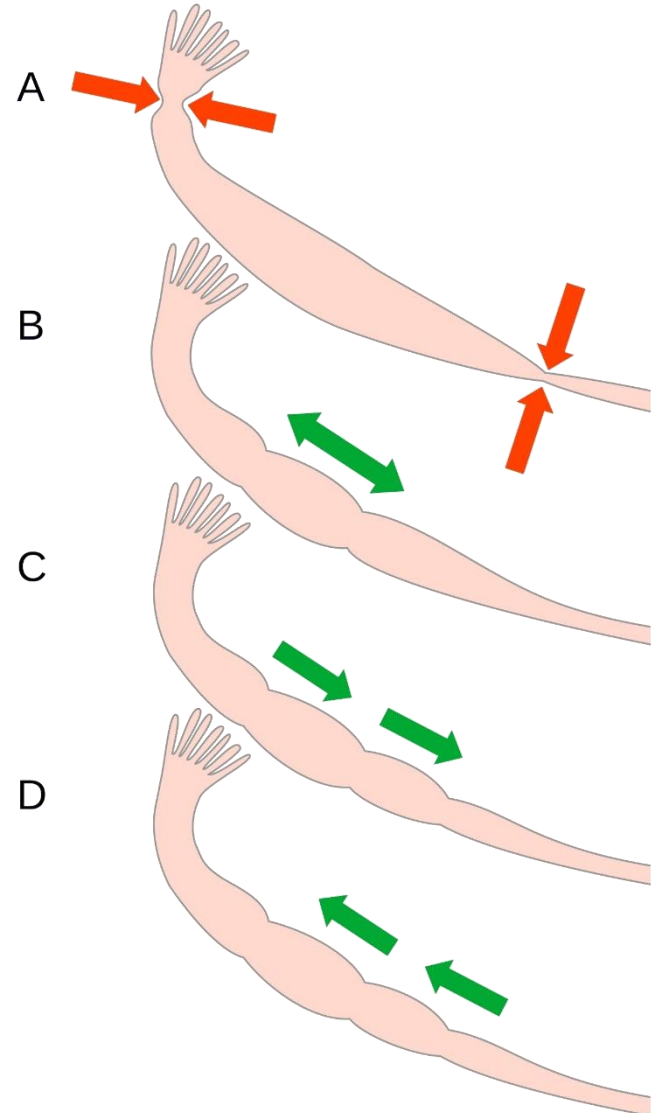
### – *tunica serosa*

## – transportní funkce

## – receptory (endokrinní regulace motility a transportních funkcí)

## – ligandy (preimplantační vývoj embrya)

# Pohyby vejcovodu

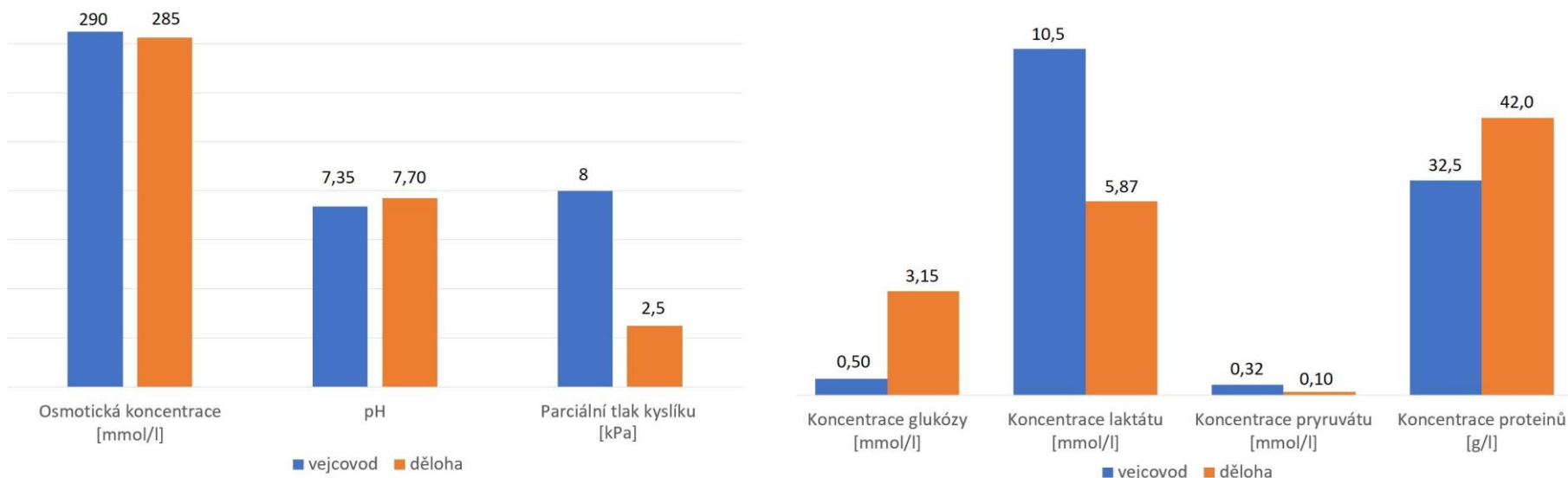


- A – Tonické kontrakce cirkulární složky hladké svaloviny vejcovodu uzavírají abdominální i uterinní ústí vejcovodu
- B – Kývavý pohyb. Prstence kontrahované hladké svaloviny uzavírají segment vejcovodu a kontrakce se posouvají střídavě směrem k abdominálnímu a uterinnímu ústí vejcovodu
- C – **Peristaltický pohyb.** Kontrakce svaloviny posouvají obsah směrem k děložnímu ústí
- D – **Antiperistaltický pohyb.** Kontrakce svaloviny posouvají obsah směrem k abdominálnímu ústí



# Tubární sekret

- sekrece je regulována převážně **estrogeny**
- pH je okolo 7,2 – 7,5 ;  $pO_2$  je 8kPa
- ↑↑↑ glutamin, glutamat, taurin a glycin
- uprostřed cyklu – **prostaglandiny** (modulace kontraktivity vejcovodu)



*Trávník P. Klinická fyziologie lidské reprodukce. 1. vydání, 2022.*

# Ligandy ve vejcovodu

## – růstové faktory:

- TGF –  $\alpha$
  - IGF – 1,2
  - EGF
- vývoj a diferenciacie  
embrya (auto-/parakrinie)

## – cytokiny:

- prozánětlivé: TNF, IL-1, IL-6, IL-8
- protizánětlivé: IL-6, IL-10
- s aktivitou růstových faktorů hemopoetických buněk: IL-2, IL-3, C-CSF
- s antivirovým účinkem: IFN- $\gamma$ .

- ↓ apoptózy (IL7)
- embryotrofický faktor (IL6)
- fertilizace (IL10 a INF $\gamma$ )
- faktor proliferace a přežití pro hemopoetické kmenové buňky (IL3)

- interakce mezi buňkami
- pohyb buněk
- buněčná diferenciacie a specializace
- proliferace kmenových buněk

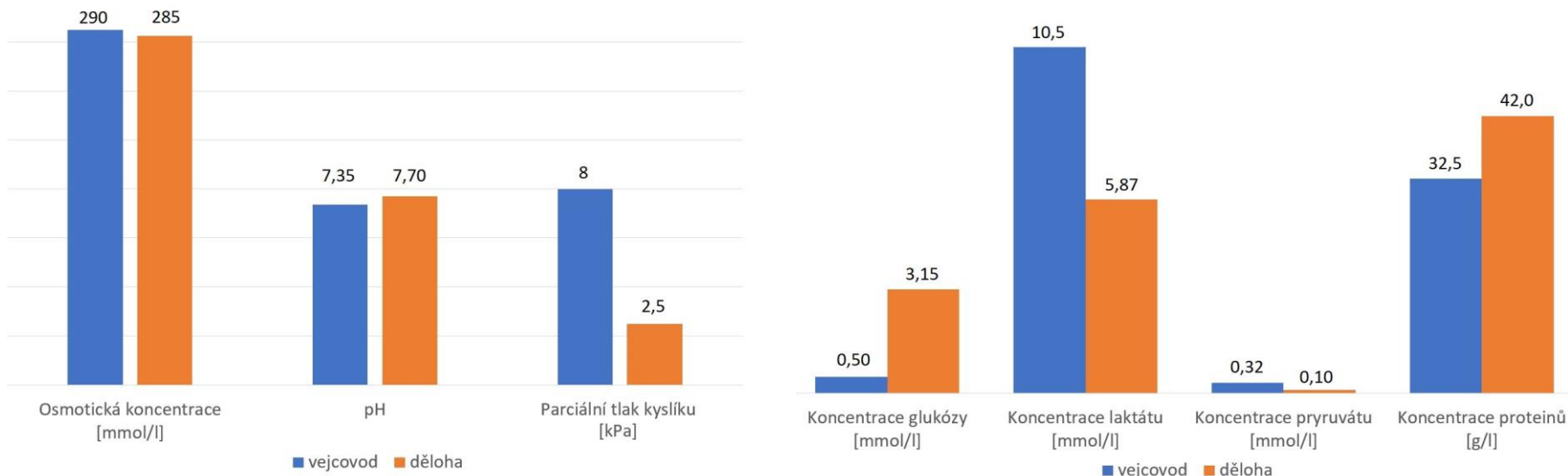
# Receptory vejcovodu

- FSH/LH(hCG) receptory
- Estradiol / progesteron receptory
- Angiotenzin II receptory
- Kanabinoidní receptory
- Cytokinové receptory
- Receptory pro růstové faktory

– transport vajíčka  
– sartany v léčbě hypertenze!!!

# Intrauterinní sekret

- sekrece je regulována převážně progesteronem
- pH je okolo 7,5 – 7,9 ;  $pO_2$  je 2 – 3 kPa
- ↑↑↑ glutamin, glutamat, taurin a glycin



*Trávník P. Klinická fyziologie lidské reprodukce. 1. vydání, 2022.*

# Ligandy endometria

## – preimplantační:

růstové faktory

## – implantační:

integriny (transmembránové proteiny, adheze trofoblastu a endometria)

selektiny (glykoproteiny, selekce vhodného místa implantace)

kadheriny (glykoproteiny, mezibuněčný spoj)

muciny (glykoproteiny, odpuzuje blastocystu od míst nevhodných k implantaci)

cytokiny (glykoproteiny, implantace)

prostaglandiny (eikosanoidy, časování implantačního okna)

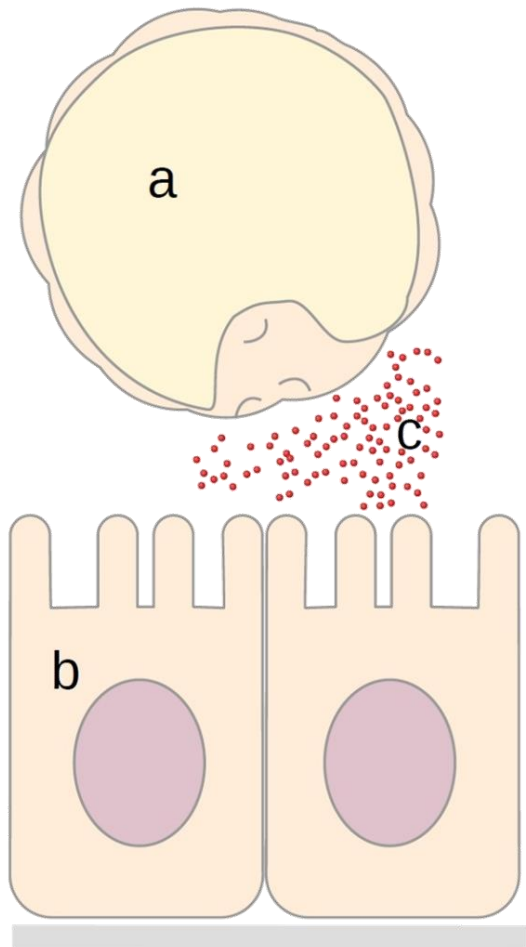
kanabinoidy (synchronizace blastocysty a endometria)

matrix metaloproteázy (proteolytické enzymy, invaze trofoblastu do endometria)

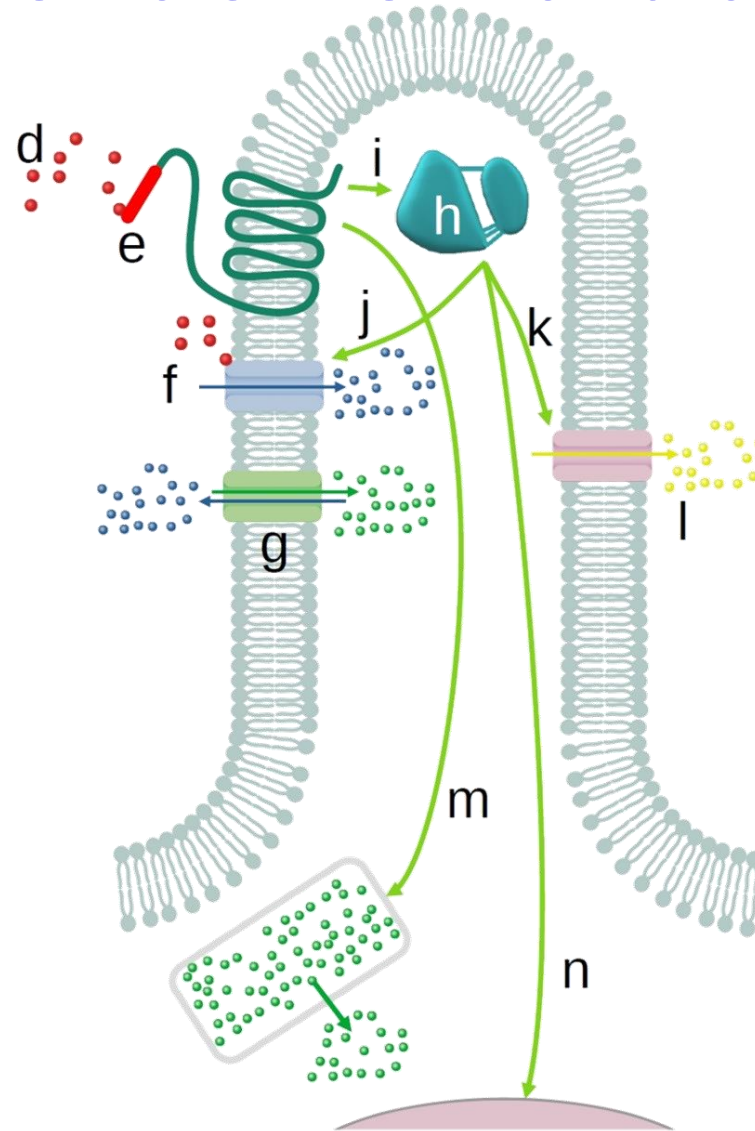
# Implantace embrya

- **Implantační okno** (perioda, kdy je děloha připravená k implantaci volně uložené blastocysty přítomné v děložní dutině)
- 19. – 21. den cyklu/4. – 7. den po zvýšení progesteronu
- **Decidualizace** endometria (transformace stromálních buněk na epiteloidní deciduální buňky)

# Aktivace endometria blastocystou



A



B

A. Sekret blastocysty obsahující **trypsin** působí na luminální epitel endometria

- a – blastocysta; b – luminální epitel endometria; c – mikrovezikuly obsahující **trypsin**

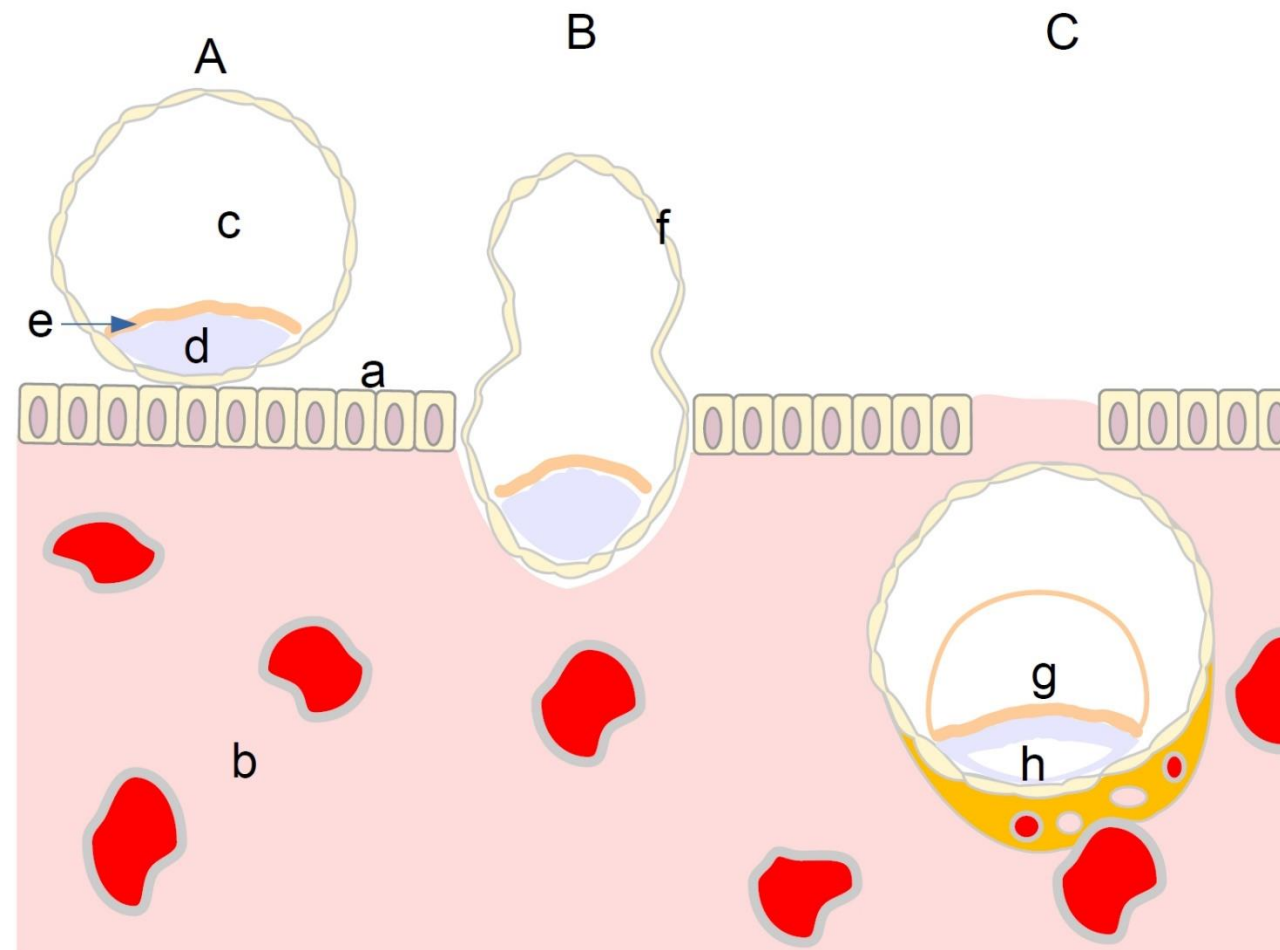
B. Detail mikrokliku a přilehlé cytoplazmy luminální buňky se schématem řídicích kaskád

- d – **molekuly trypsinu** aktivují receptor; e – receptor aktivovaný na proteázou; f – epitelový sodíkový kanál (kanál po aktivaci transportuje sodíkové ionty z extracelulárního prostředí do cytoplazmy luminální buňky); g – iontový exchanger čerpá do cytoplazmy luminální buňky kalciové ionty výměnou za sodíkové; h – sérem a glukokortikoidy aktivovaná kináza 1 (SGK1), vede k aktivaci endometria; i – receptor PAR-2 aktivuje SGK1; j – SGK1 aktivuje epitelový iontový kanál ENaC; k – SGK1 aktivuje iontový kanál CFTR; l – aktivovaný CFTR odvádí z cytoplazmy luminální epitelové buňky chloridové ionty; m – kaskáda spuštěná PAR-2 vede k uvolnění kalciových iontů z endoplazmatického retikula; n – SGK1 aktivuje prostřednictvím transkripčních faktorů geny potřebné k implantaci embrya

**Progesteron**

**MUNI  
MED**

# Postup implantace



A. blastocysta připojená k endometriu

B. kolabovaná blastocysta pronikající do endometria

C. opět rozepjaté embryo zanořené do endometria

- a - epitel endometria; b - stroma endometria; c – blastocel; d – epiblast; e – hypoblast; f – trofoblast; g - žlutkový váček; h - amniový váček



# Tolerance embrya mateřským organismem

- embryo a placenta jsou semialogenní
- **k zábraně imunitní rekognice a rejekce:**
  - anatomické oddělení matky a embrya trofoblastem/placentou
  - modifikace exprese molekul systému HLA
  - potlačení mateřské buněčné imunity

# Mateřský imunitní systém v graviditě

## – Nespecifický:

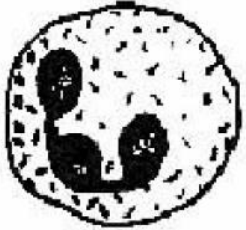
- fagocyty (granulocyty, monocyty, makrofágy)
- NK buňky
- systém komplementu

## – Specifický:

- T – lymfocyty
- B – lymfocyty
- imunoglobuluny

# Fagocyty

*migrace*



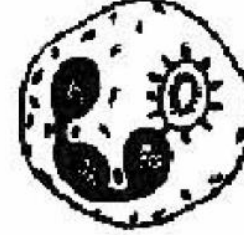
*adheze*



*ingesce*



*degradace*



– granulocyty

– monocyty

– makrofágy

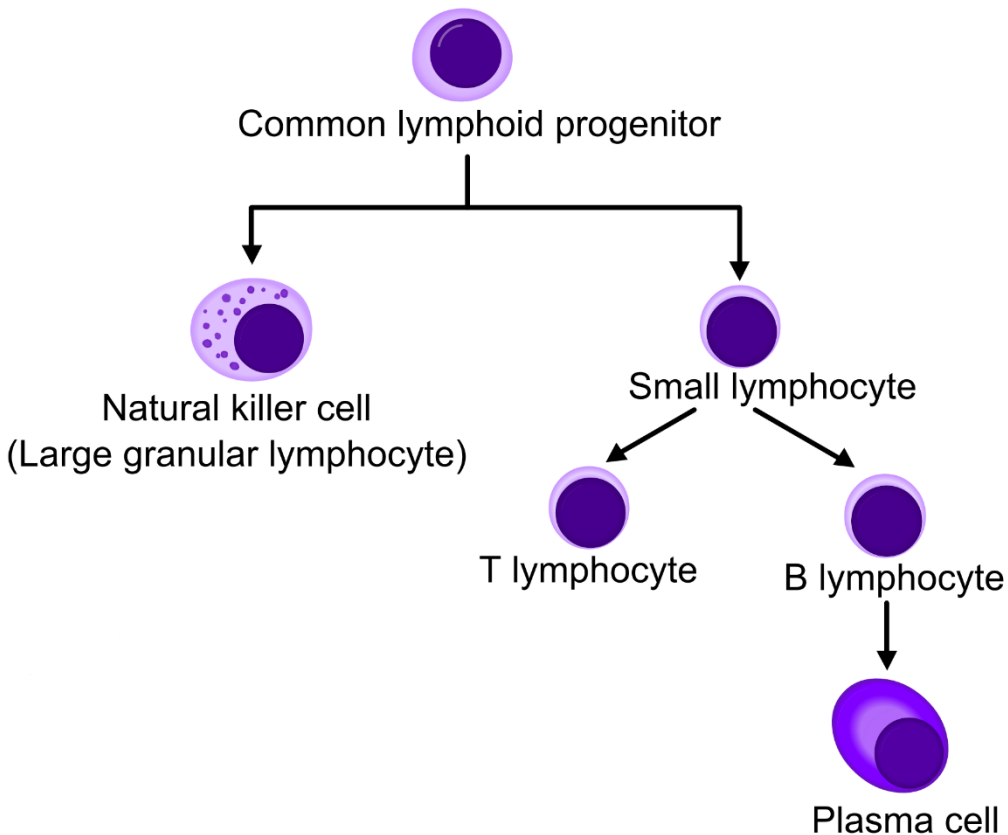
Neutrofilové extracelulární pasti (NET zabírá prostor uvnitř trofoblastových klků, snižuje cévní průtok krve a způsobuje hypoxii plodu)

Intermediární monocyty (CD14<sup>+++</sup>CD16<sup>+</sup>)

Makrofágy M1 – angiogeneze, proliferace, migrace a motilita trofoblastu

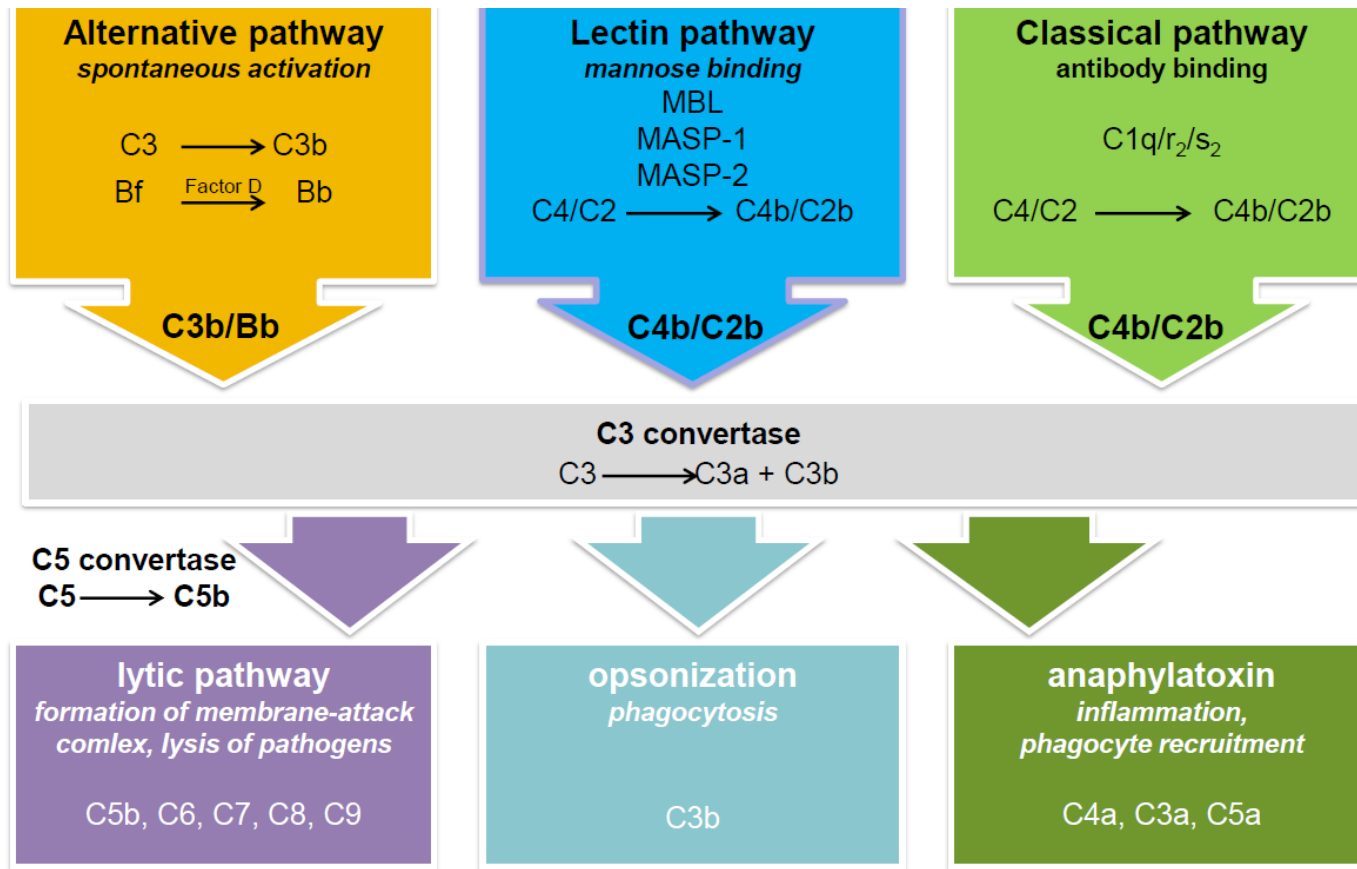
M2 – proliferace, apoptóza, invaze a migrace trofoblastu signálními cestami

# NK buňky



- hlavní část cytotoxické buněčné imunity
- jsou schopni ničit i bez předchozího setkání s antigenem (to se uplatňuje u novorozenců)
- nenesou CD-3 znak (rozpoznávání antigenů a aktivace imunokompetentních T lymfocytů)
- deciduální NK:
  - invaze trofoblastu
  - angiogeneze



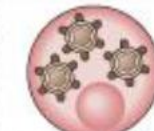



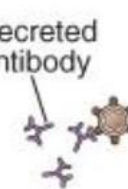
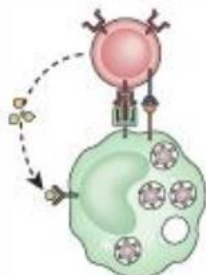

# System komplementu



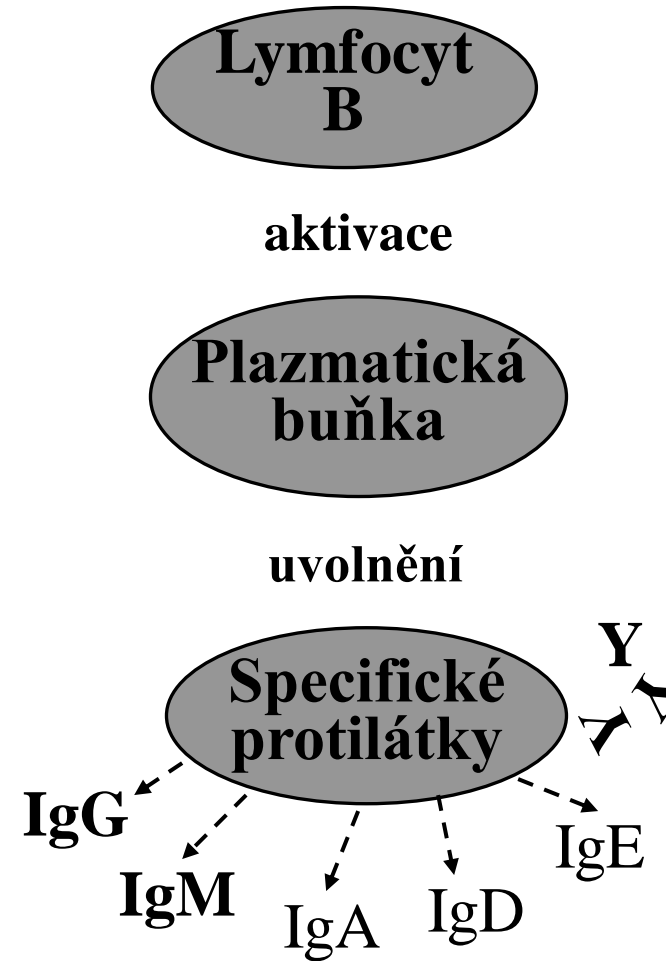
- ↑↑↑<= CRP, fibrinogen, faktor VII
- ↑faktor H (glykoprotein) - alternativní cesta
- ↑DAF (CD55)
- PAPP-A (plasmatický specifický těhotenský protein A)

opsonizace, chemotaxe, prozánětlivé funkce, osmotická lýza

# Mateřský imunitní systém v graviditě

	Humoral immunity	Cell-mediated immunity	
Microbe	 Extracellular microbes	 Phagocytosed microbes in macrophage	 Intracellular microbes (e.g., viruses) replicating within infected cell
Responding lymphocytes	 B lymphocyte	 Helper T lymphocyte	 Cytolytic T lymphocyte
Effector mechanism	 Secreted antibody		
Functions	<b>Block infections and eliminate extracellular microbes</b>	<b>Activate macrophages to kill phagocytosed microbes</b>	<b>Kill infected cells and eliminate reservoirs of infection</b>

© Elsevier Ltd. Abbas & Lichtman: Basic Immunology 2E www.studentconsult.com



**Děkuji za pozornost**