

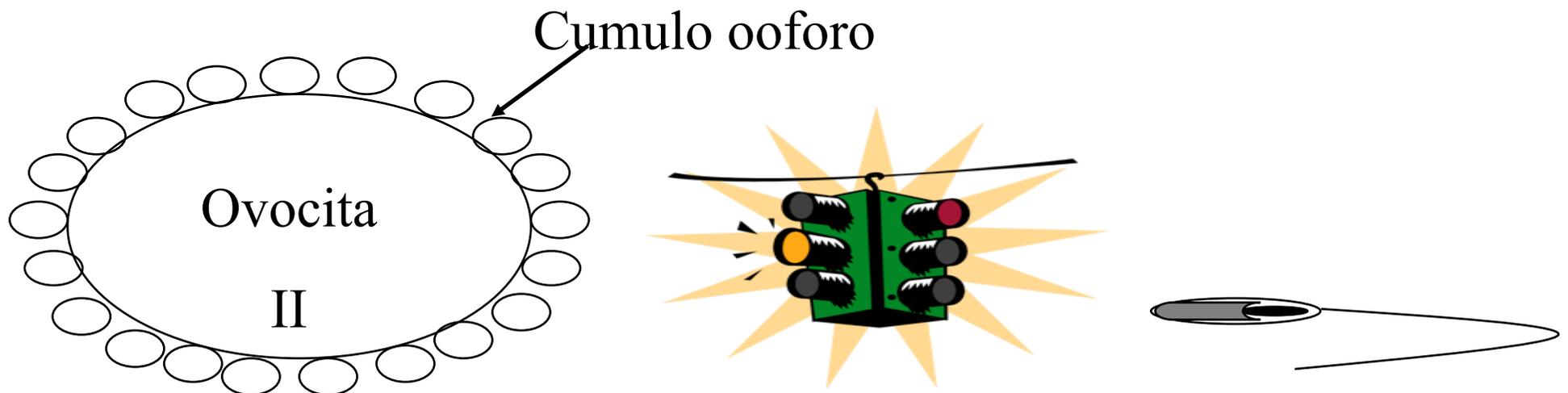
Fecondazione Mammiferi

Fecondazione interna

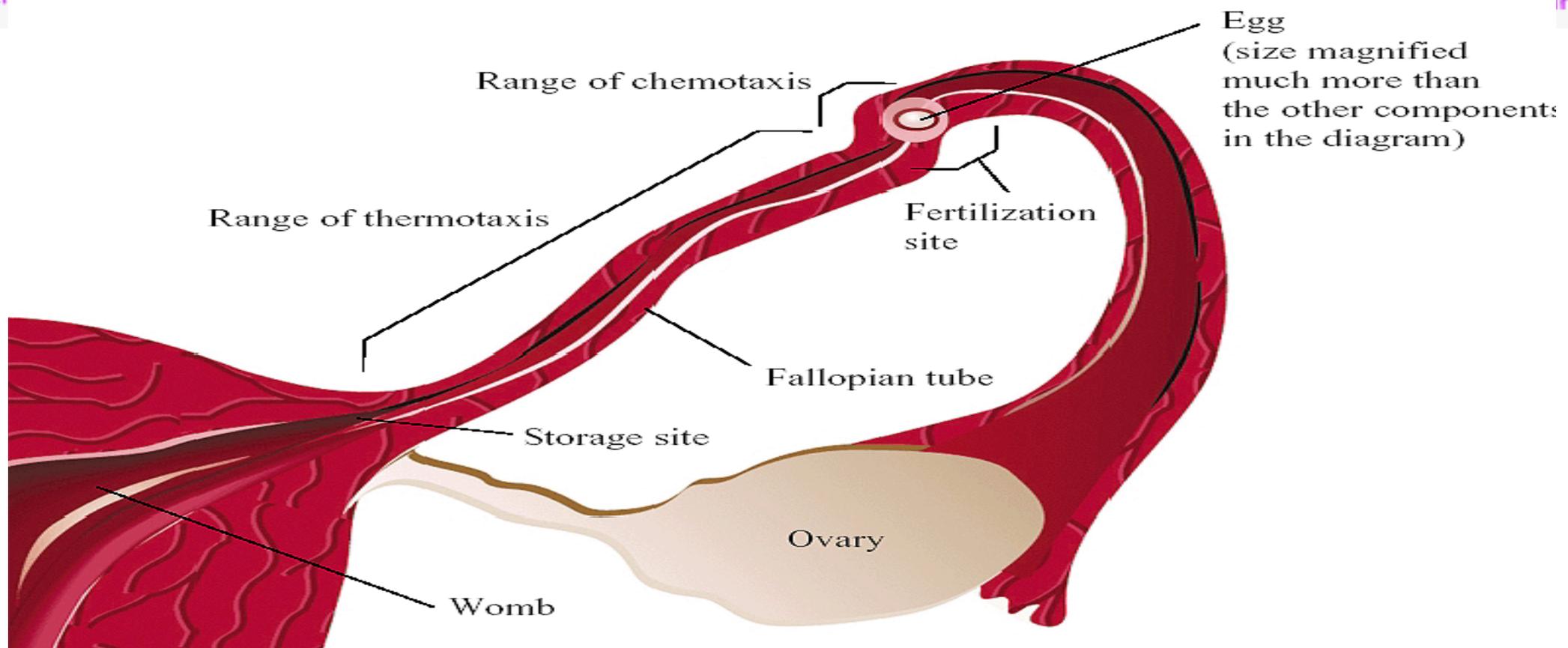
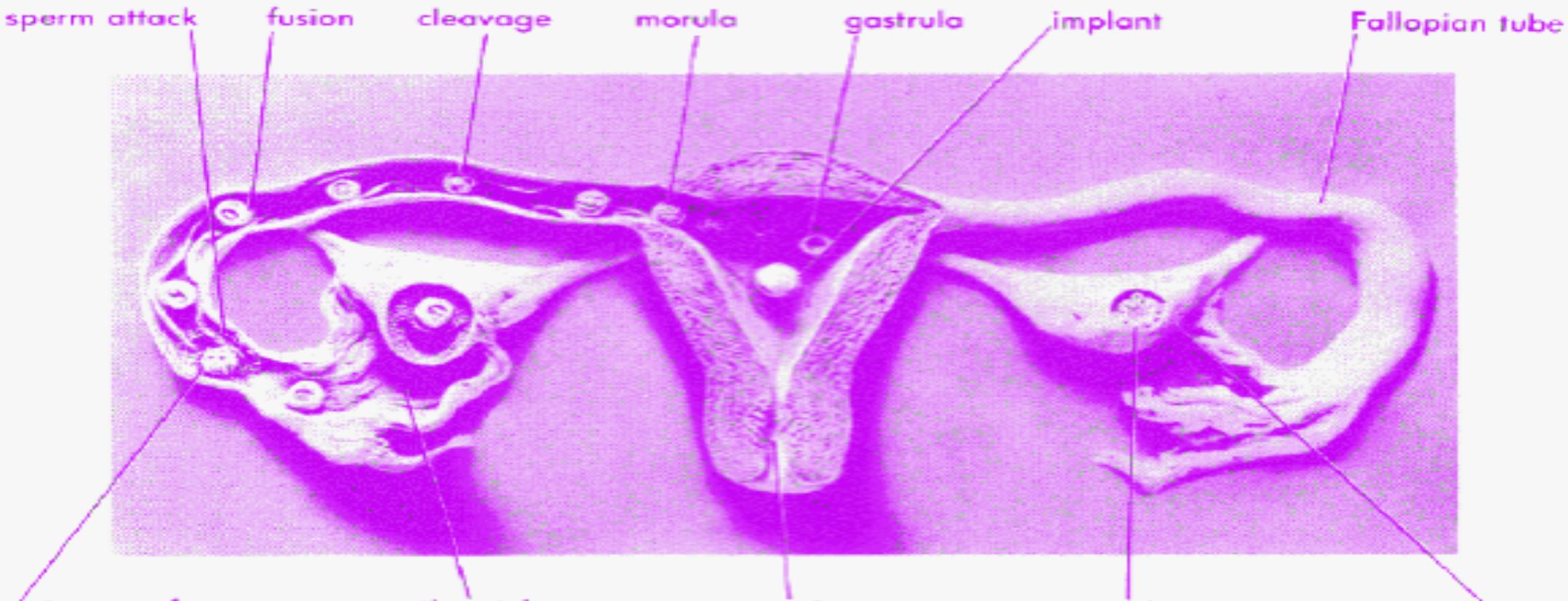
Di norma un campione di seme umano contiene da 200 a 400×10^6 spermatozoi in un volume di 2-4ml. Se gli spermatozoi sono meno di 20 milioni/ml o se gli sp. anomali sono superiori al 25%, l'individuo è in genere sterile.

Gli spermatozoi, usciti dal testicolo, sono incapaci di movimento. Acquistano tale capacità nell'epididimo.

Per poter fecondare l'uovo gli spermatozoi devono essere capacitati, qualità che acquistano nelle vie genitali femminili.

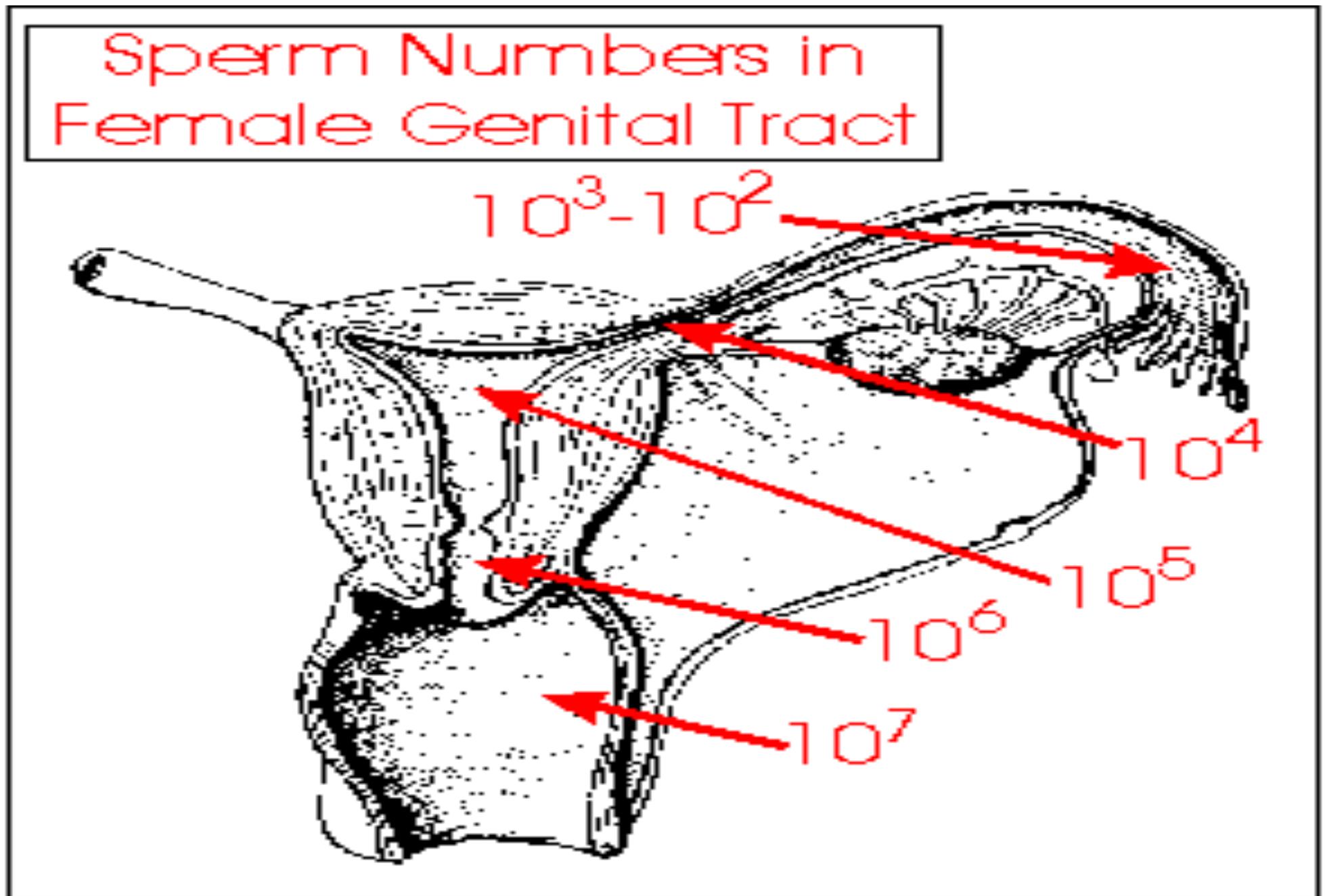


Vie genitali femminili e fecondazione

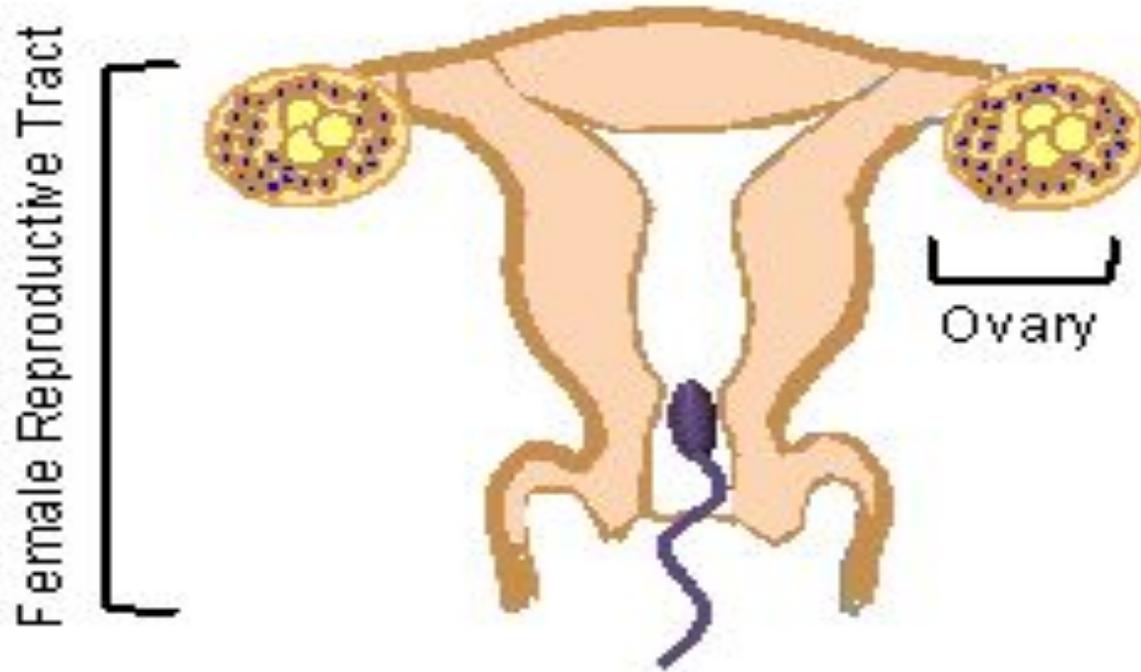


Il numero di spermatozoi che arrivano all'ampolla si riduce progressivamente

Prima dell'ovulazione il pH del collo uterino è alcalino, il che permette la sopravvivenza degli spermatozoi. Il muco cervicale nel periodo in cui l'ovocita è fecondabile facilita il passaggio degli spermatozoi



Spermatozoi e vie genitali femminili



Spermatozoi nelle vie genitali femminili

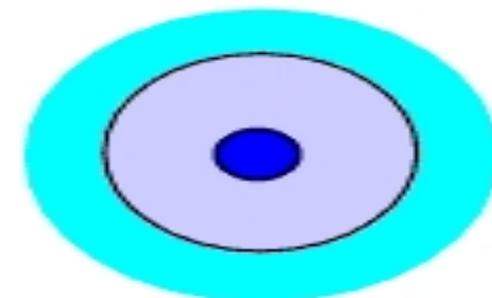
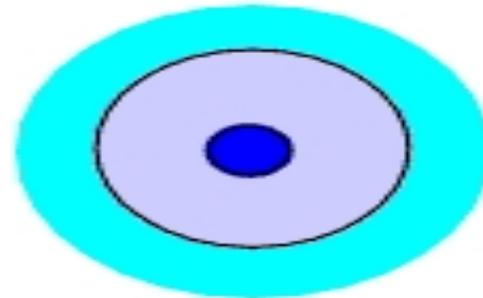
- Perdita di fattori decapacitanti
- Formazione di zattere lipidiche
- Attivazione della via di segnalazione di PKA
- Iperattivazione della motilità spermatica
- Acquisizione della capacità di legarsi a ZP

Gli spermatozoi per essere in grado di fecondare devono essere capacitati

Capacitation of Human Sperm

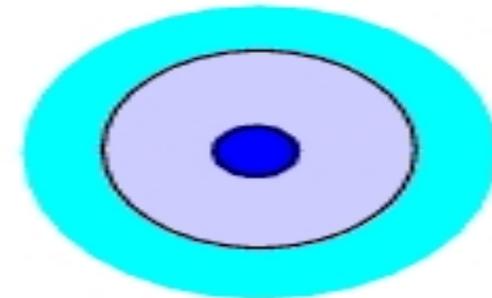
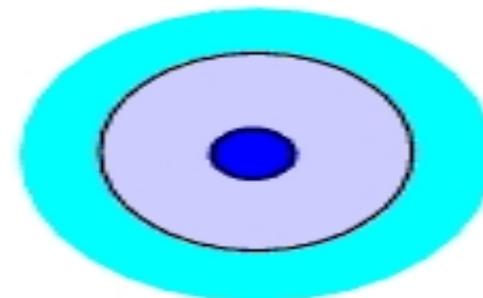
Experiment #1

Sperm from testes



Experiment #2

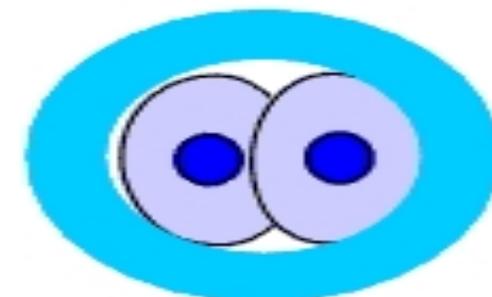
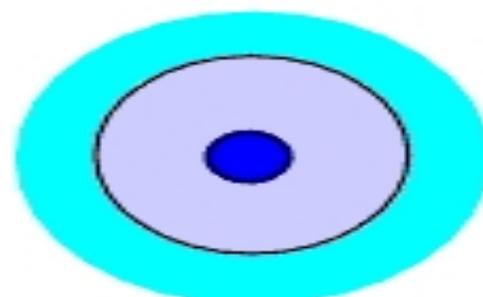
Ejaculated sperm



Experiment #3

Mix with uterine washings

"Treated" ejaculated sperm

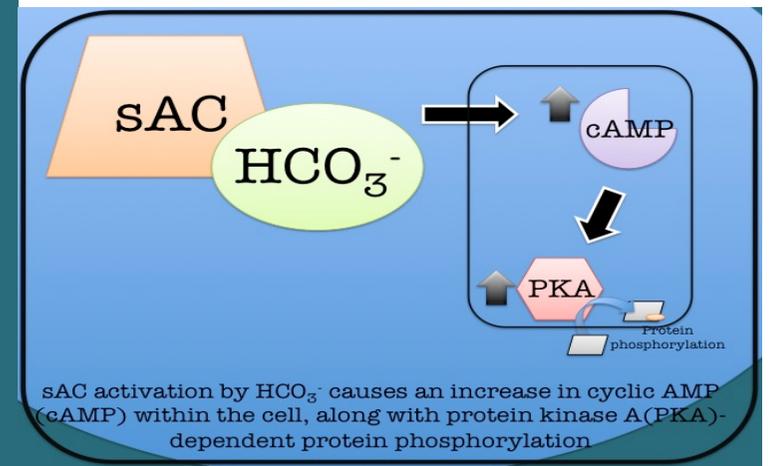
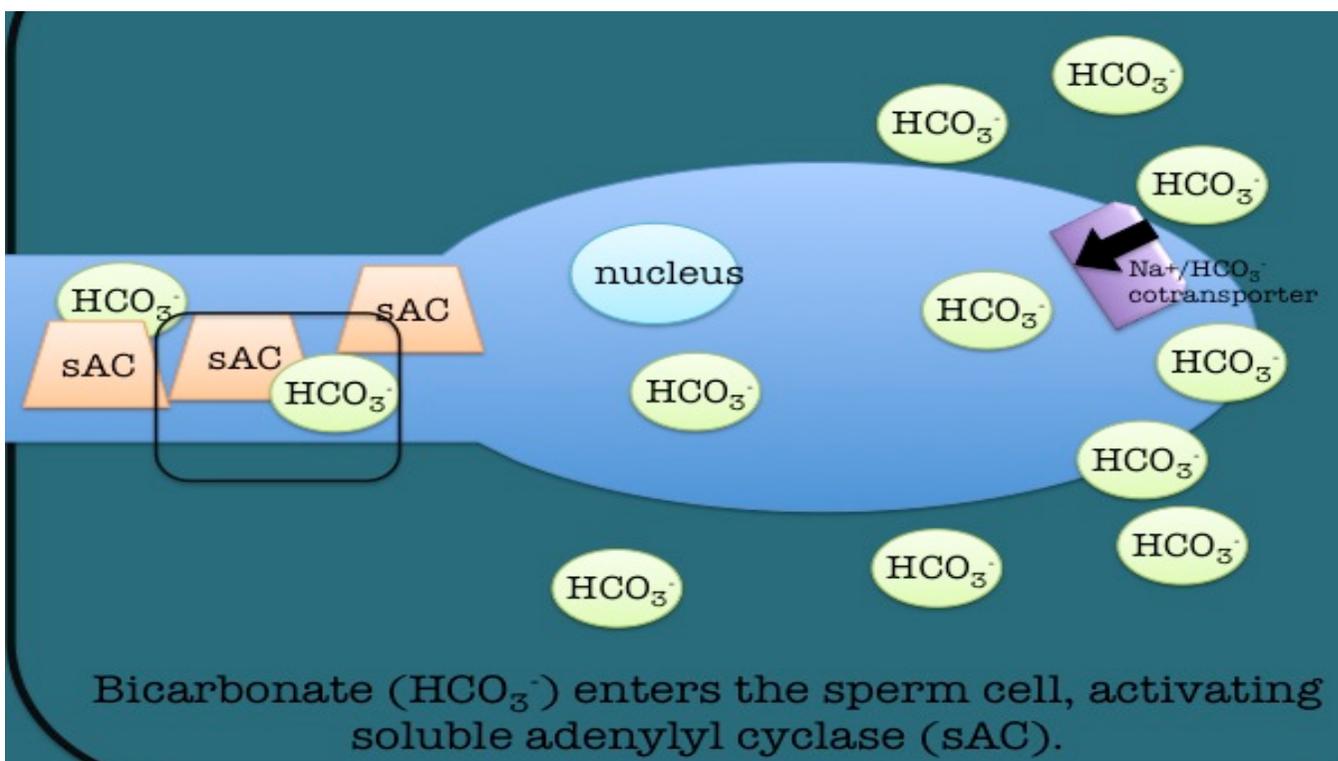
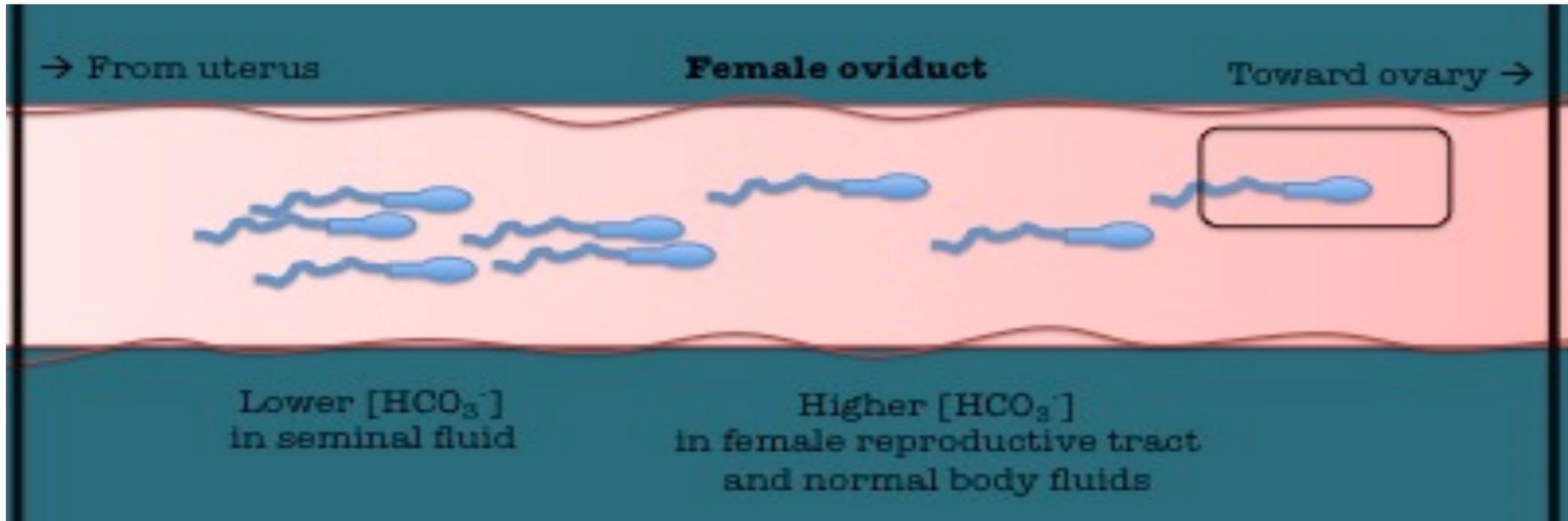


Gli spermatozoi per essere in grado di fecondare devono essere capacitati

La capacitazione avviene durante il transito nelle vie genitali femminili, ambiente in cui è presente progesterone che agisce rendendo la membrana dello spermatozoo instabile. A questo scopo agisce anche l'albumina, che sottrae colesterolo alla membrana plasmatica dello spermatozoo, spostando così le zattere lipidiche che contengono recettori. Le vie genitali femminili secernono ioni bicarbonato che attivano la ciclasi adenilica solubile nello spermatozoo, importante per la fusione delle membrane acrosomiale e plasmatica dell'oocita per provocare la reazione acrosomiale

Uno spermatozoo può impiegare da 1/2h a 6 giorni per arrivare nell'ampolla

Capacitazione



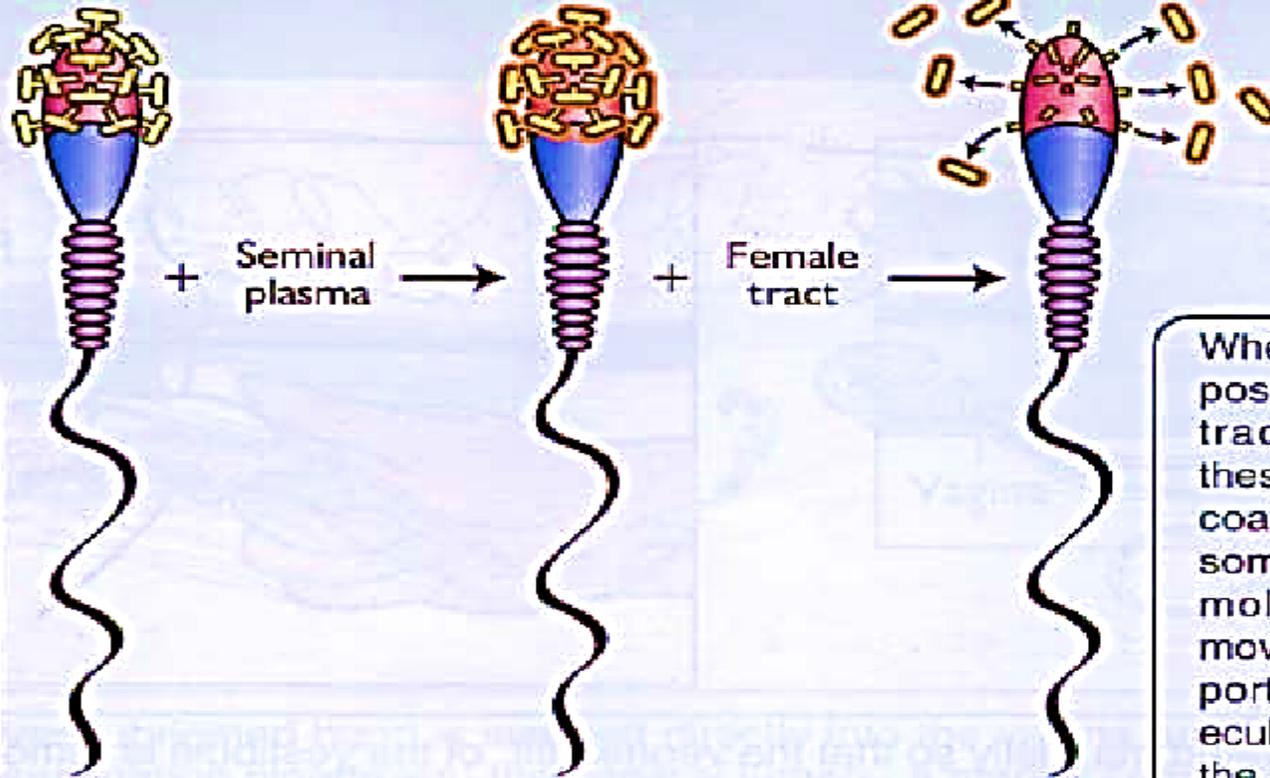
**Fosforilazione di
proteine e**
↓
CAPACITAZIONE

Capacitazione e legame alla zona pellucida

Epididymal

Ejaculated

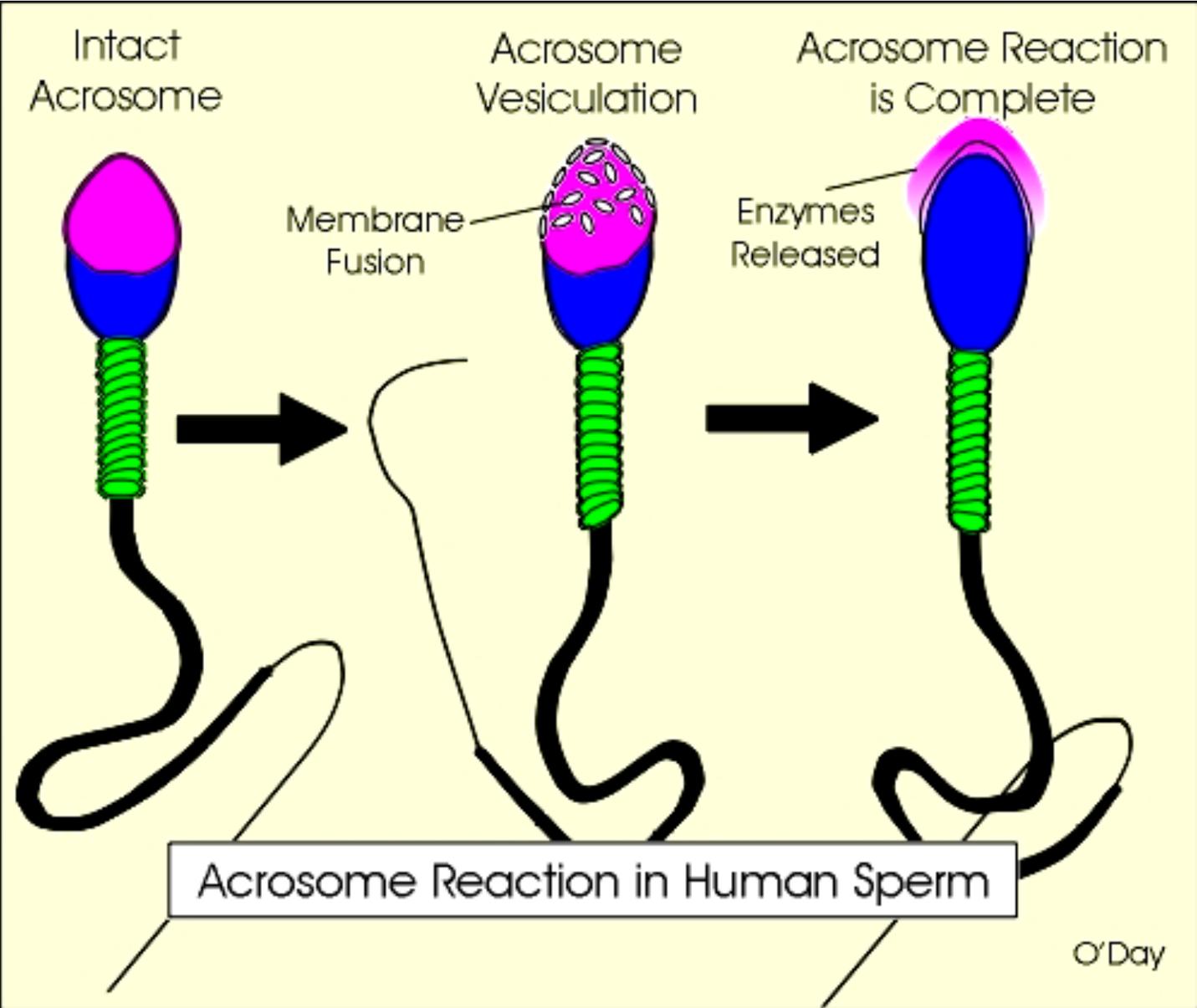
Capacitated



The plasma membrane of epididymal spermatozoa contains a complement of surface molecules (proteins and carbohydrates) illustrated here as yellow T's.

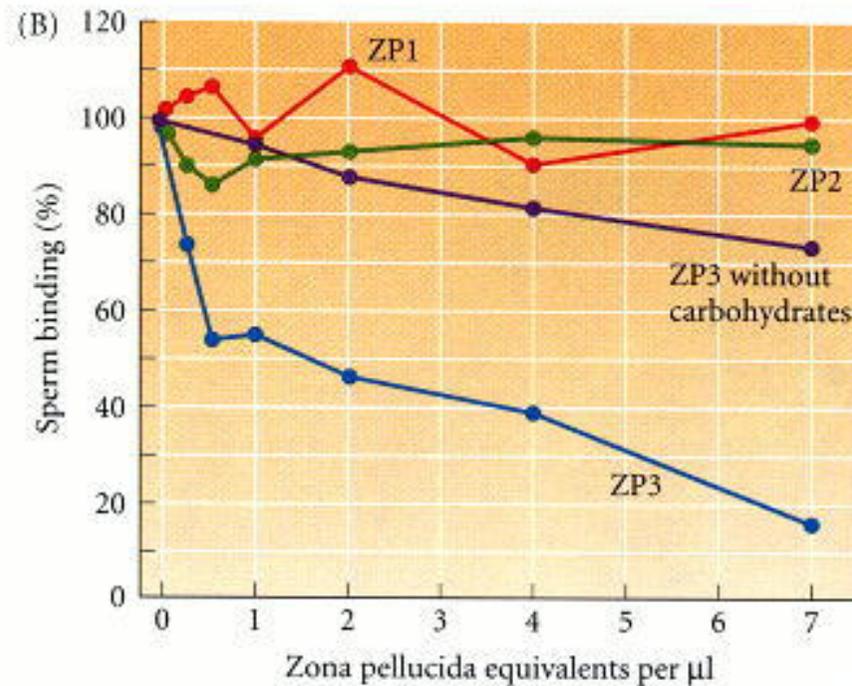
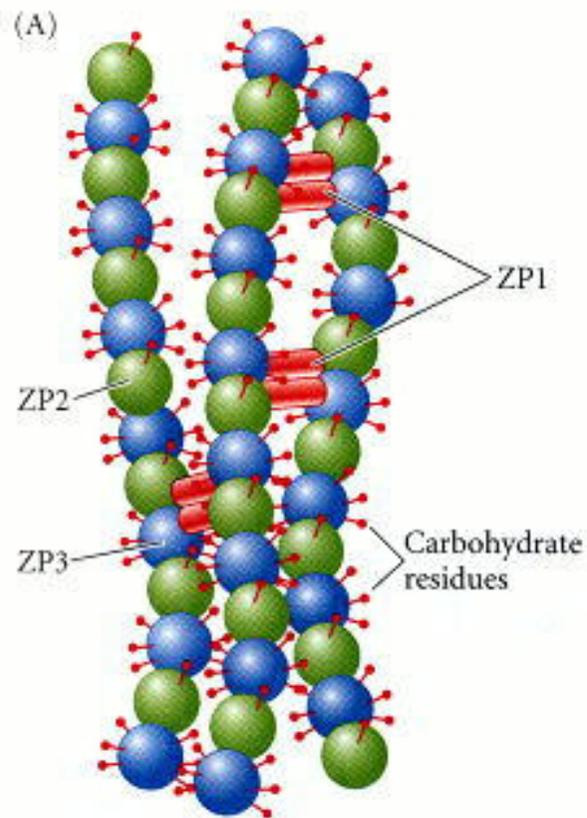
The surface molecules in epididymal sperm become coated with seminal plasma proteins (orange halos) that mask portions of the membrane molecules.

When sperm are exposed to the female tract environment, these seminal plasma coatings, along with some of the surface molecules, are removed, thus exposing portions of the molecules that can bind to the zona pellucida of the oocyte.



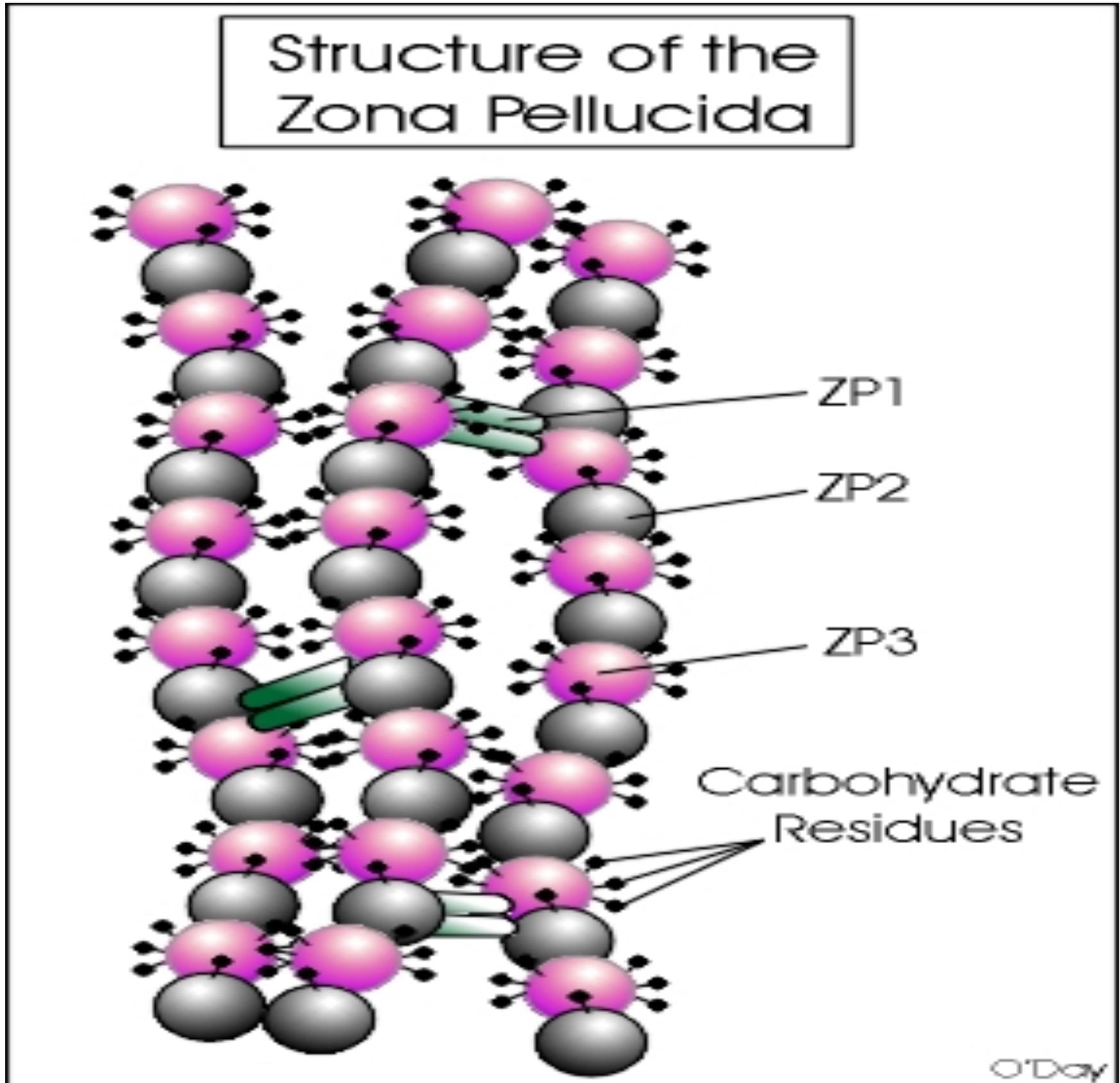
ZP3: the sperm-binding protein of the mouse zona pellucida

The zona pellucida in mammals plays a role analogous to that of the vitelline envelope in invertebrates. This glycoprotein matrix, which is synthesized and secreted by the growing oocyte, plays two major roles during fertilization: it binds the sperm, and it initiates the acrosomal reaction after the sperm is bound ([Saling et al. 1979](#); [Florman and Storey 1982](#); [Cherr et al. 1986](#)). The binding of sperm to the zona is relatively, but not absolutely, species-specific. (Species-specific gamete recognition is not a major problem when fertilization occurs internally.)



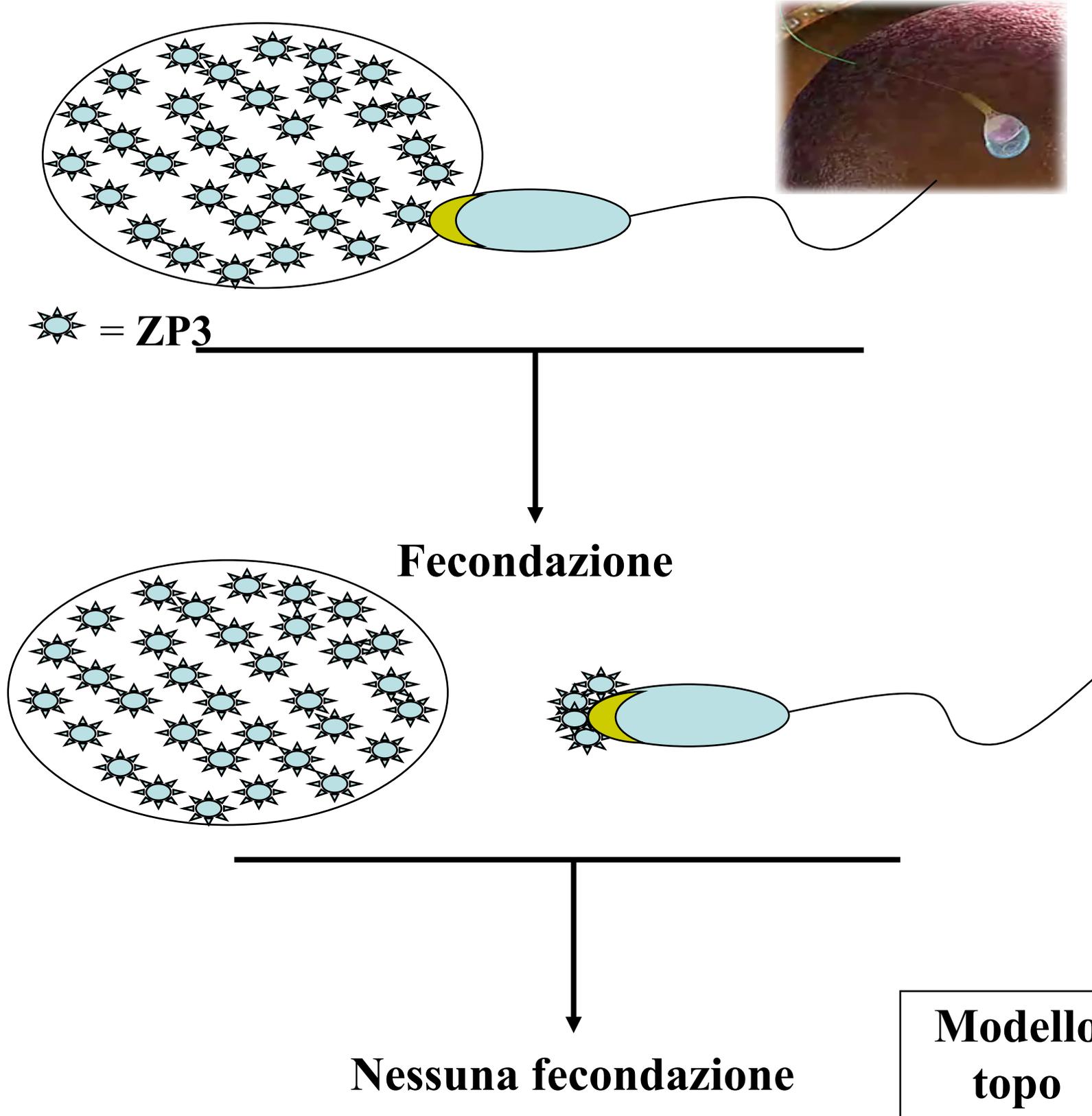
The binding of mouse sperm to the mouse zona pellucida can be inhibited by first incubating the sperm with zona glycoproteins. Bleil and Wassarman (1980, 1986, 1988) isolated an 83-kDa glycoprotein, **ZP3**, from the mouse zona that was the active competitor for binding in this inhibition assay. The other two zona glycoproteins they found, ZP1 and ZP2, failed to compete for sperm binding. Moreover, they found that radiolabeled ZP3 bound to the heads of mouse sperm with intact acrosomes. Thus, ZP3 is the specific glycoprotein in the mouse zona pellucida to which the sperm bind. ZP3 also initiates the acrosomal reaction after sperm have bound to it. The mouse sperm can thereby concentrate its proteolytic enzymes directly at the point of attachment at the zona pellucida.

Un involucro glicoproteico circonda l'uovo: la zona pellucida



La zona pellucida

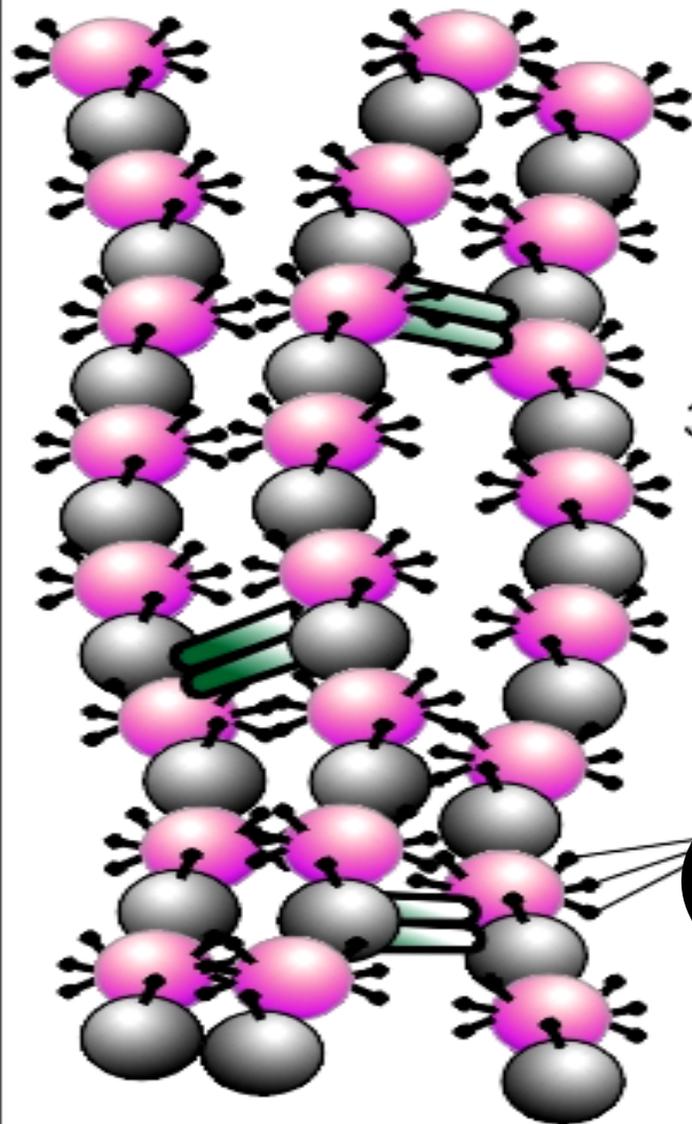
Solo ZP3 (non ZP1 e Zp2) è in grado di legare gli spermatozoi



La ZP3 è il recettore ovulare dello spermatozoo ed è responsabile del *legame primario* dello spermatozoo all'ovocita

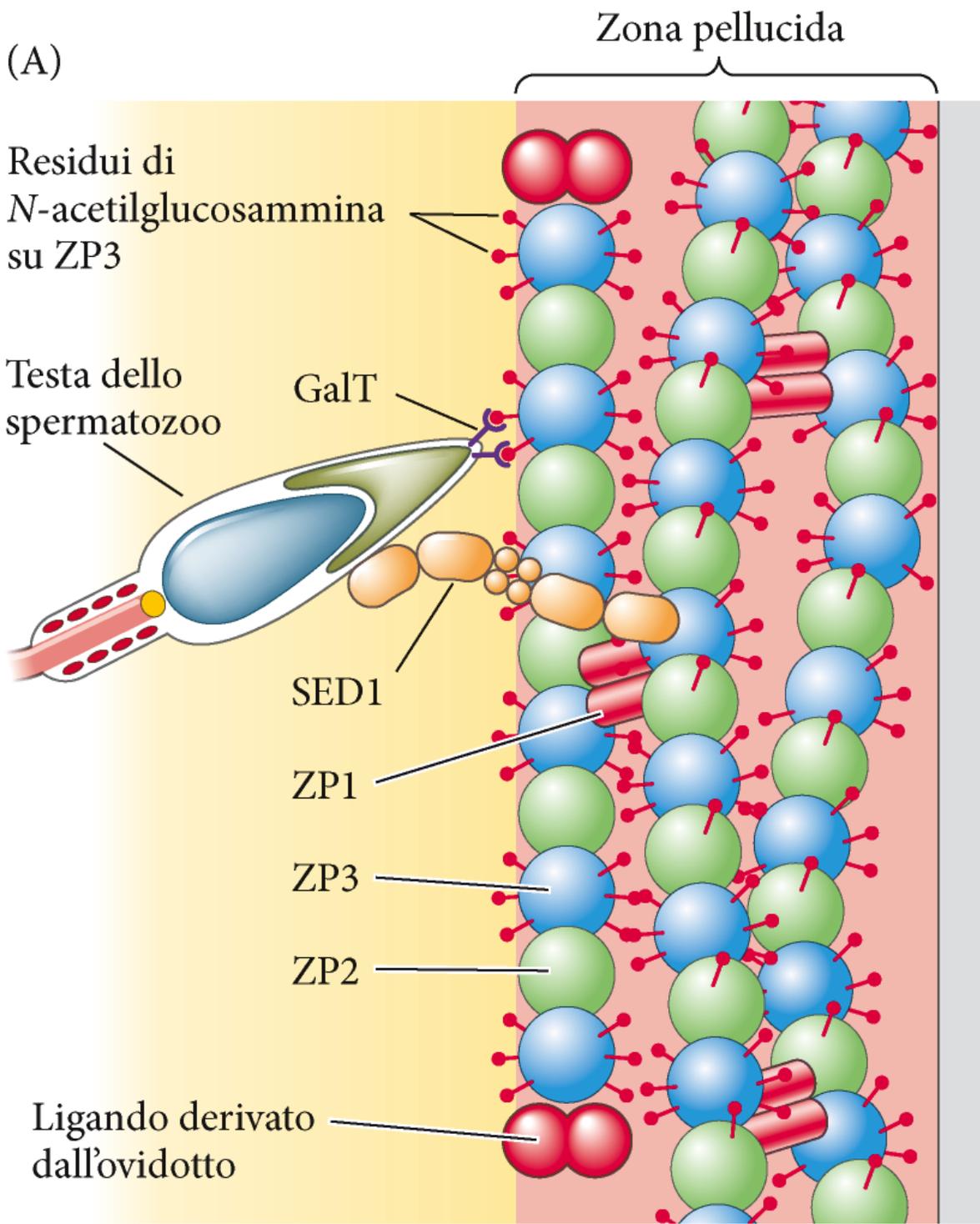
La ZP2 lega lo spermatozoo dopo la reazione acrosomiale e si forma così il *legame secondario*

Zona Pellucida Proteins & Fertilization



1. Receptor for ZP3 on sperm head binds to ZP3 in egg zona pellucida
2. ZP3-Receptor binding leads to clustering of receptors to side of sperm head
3. Resulting acrosome reaction releases acrosin which digests hole through zona
4. ZP2 receptor binds to ZP2 keeping sperm attached to zona

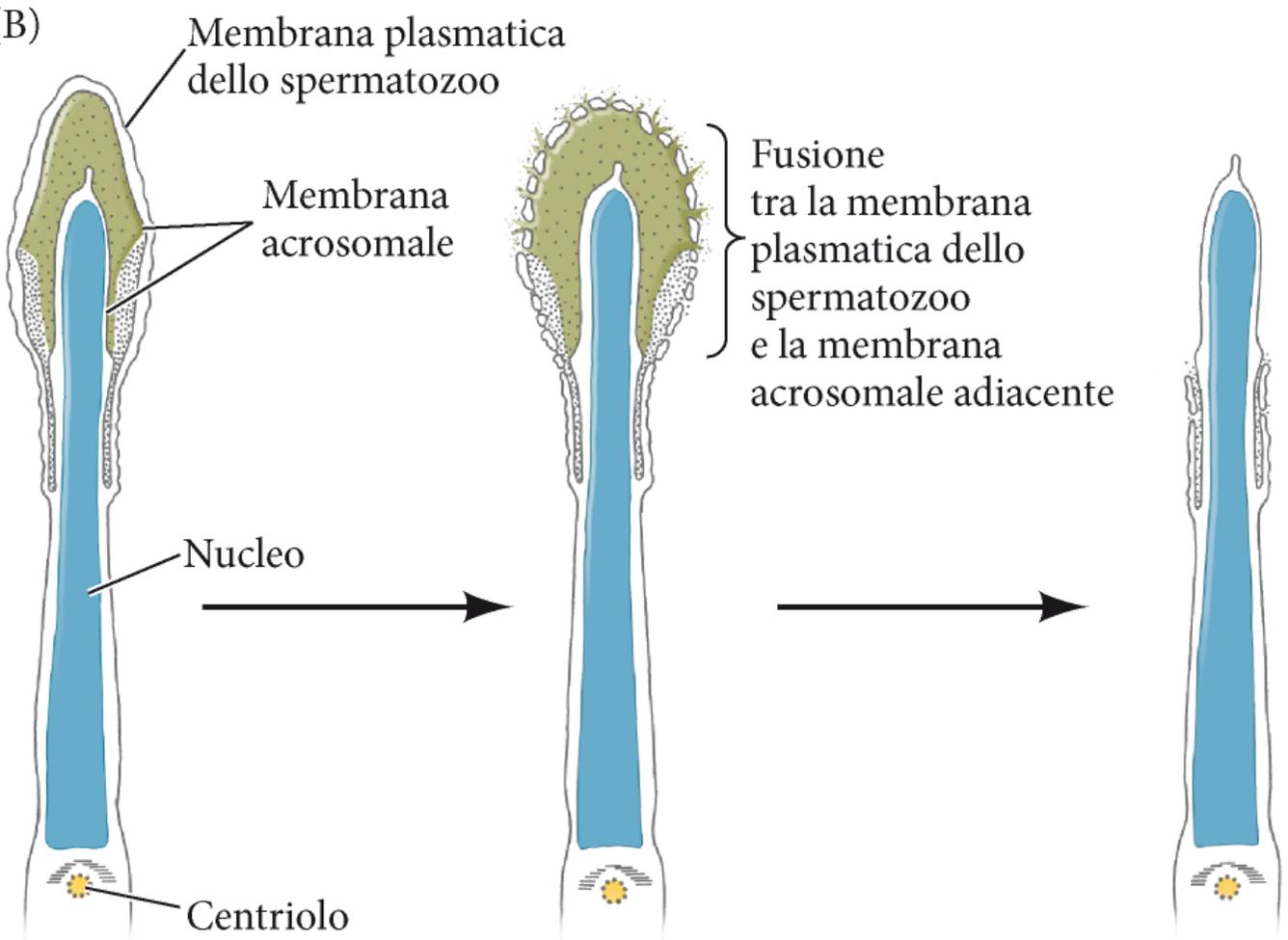
Note: Experimental removal of carbohydrate residues from ZP3 prevents sperm-egg binding and fertilization



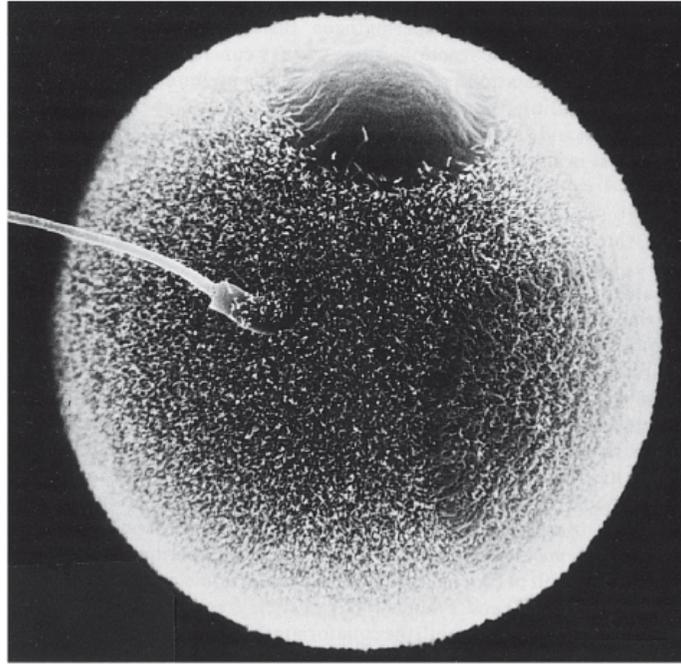
(A)



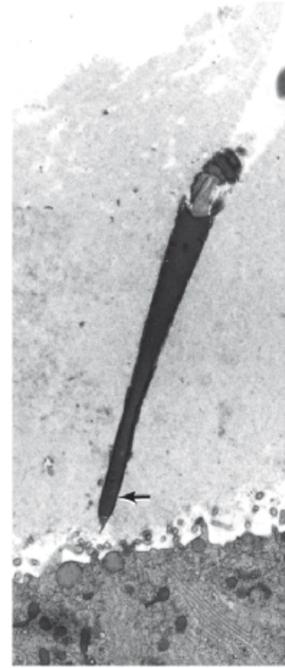
(B)



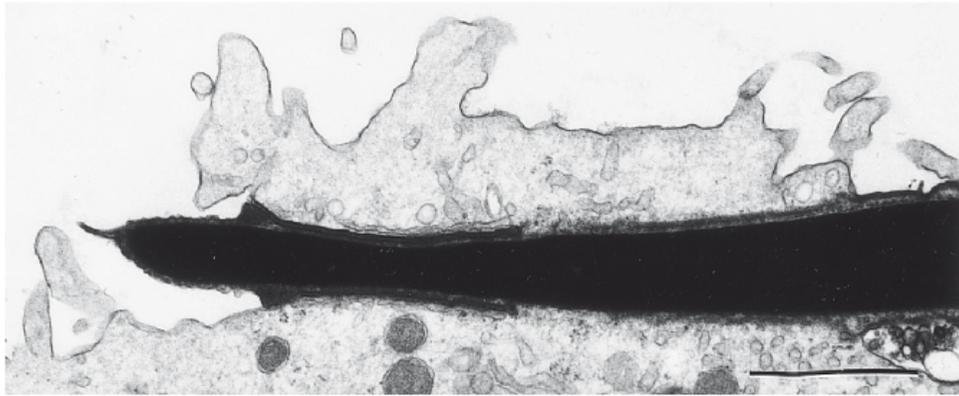
(A)



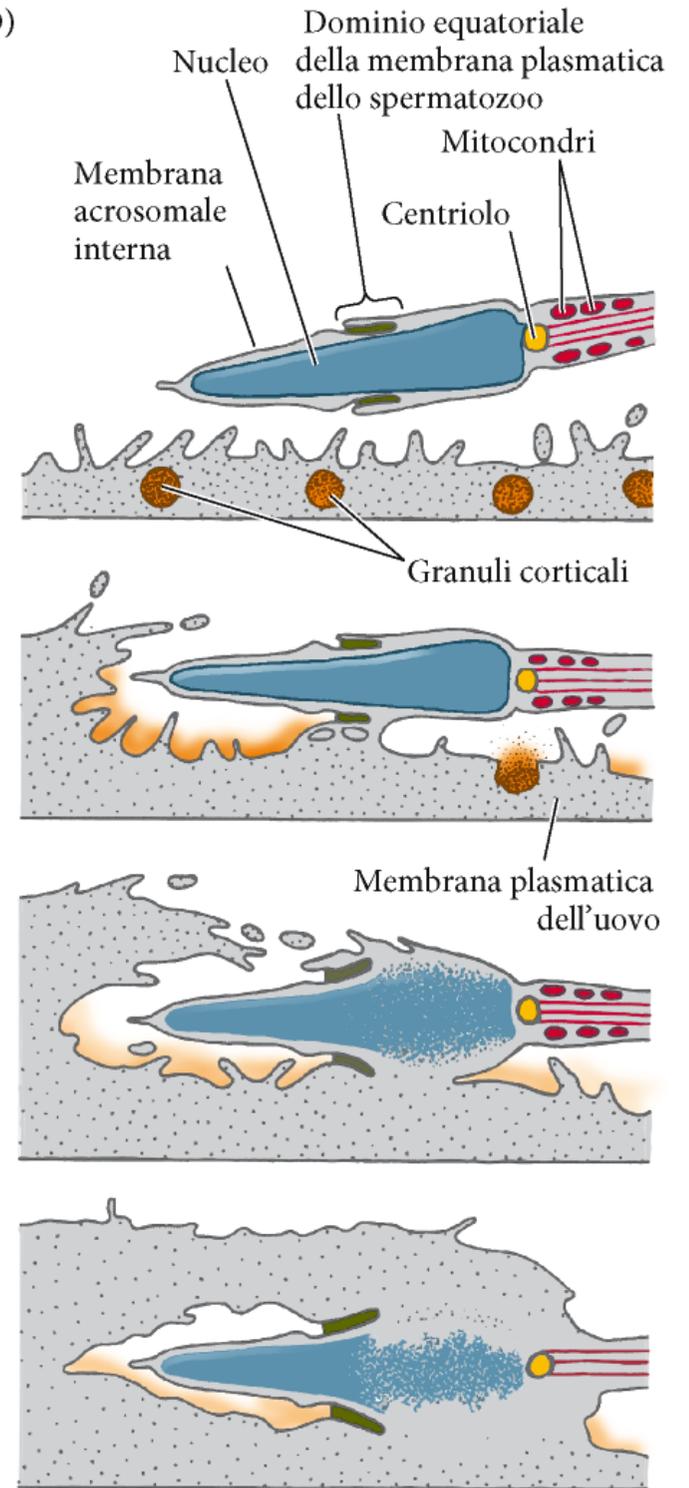
(B)



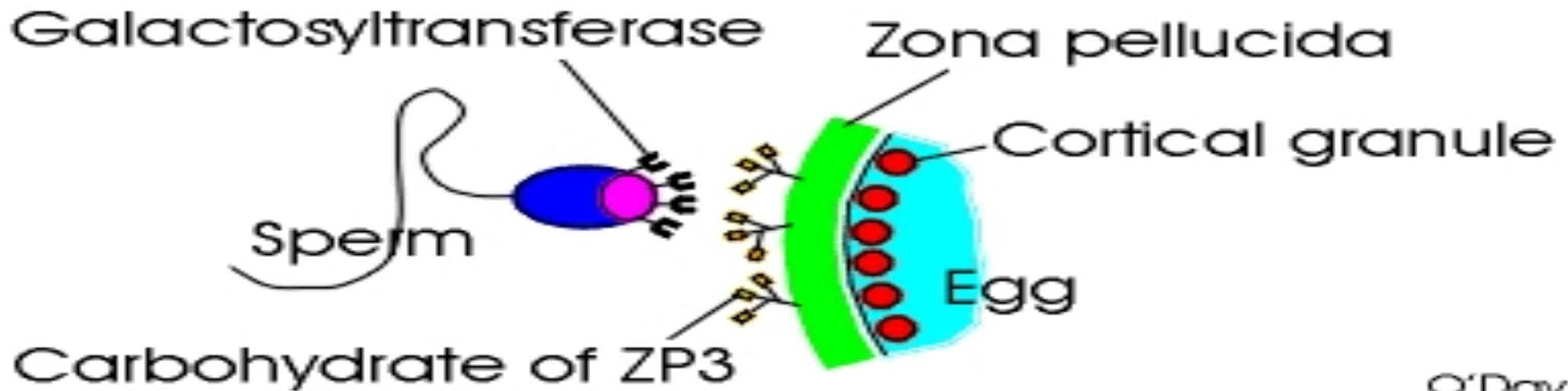
(C)



(D)

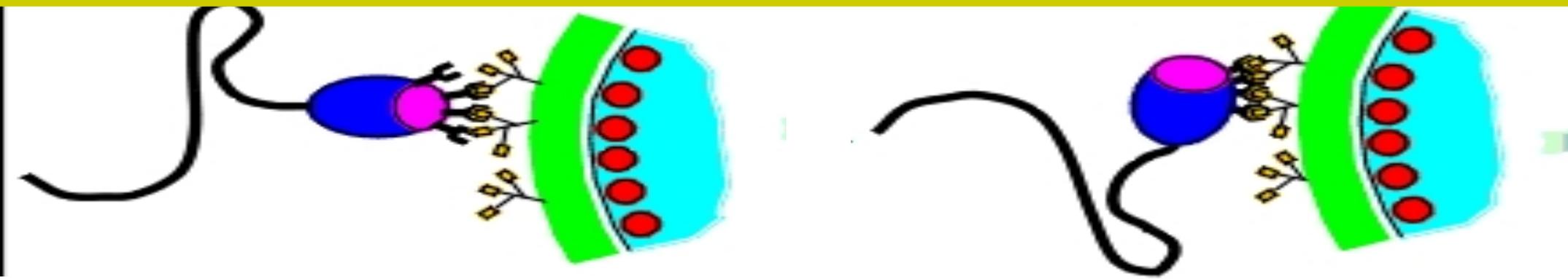


ZP3 e reazione acrosomiale



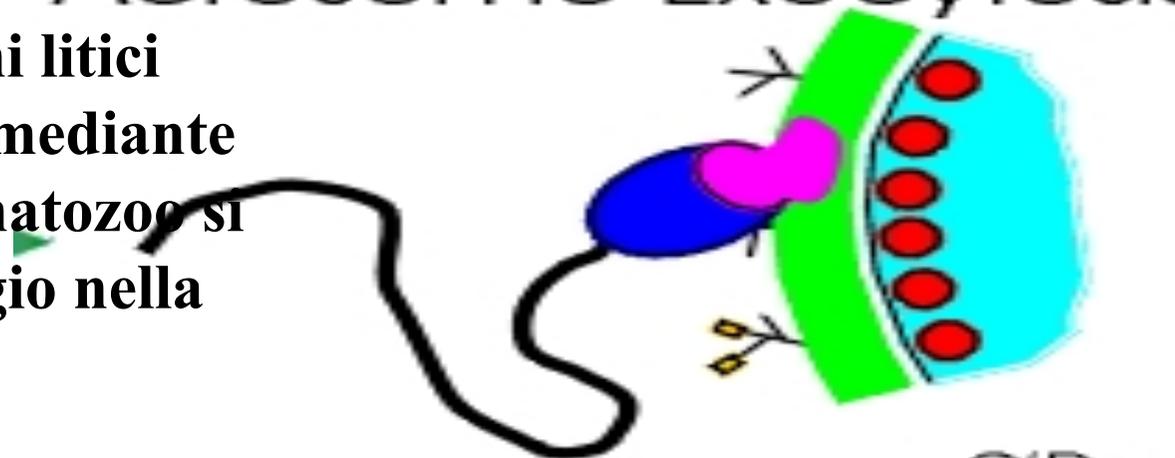
Legame spermatozoo-uovo

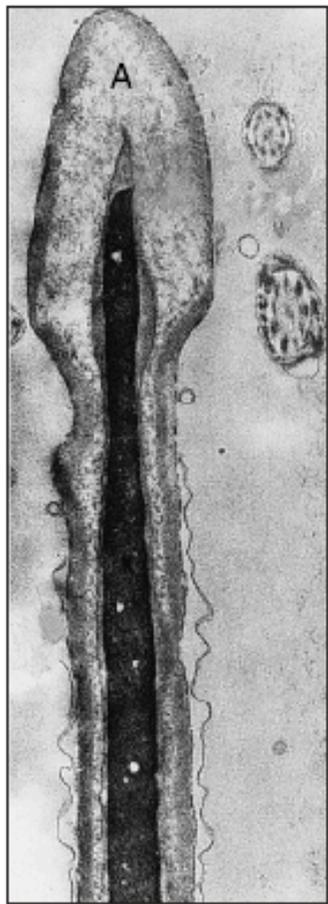
Raggruppamento dei recettori



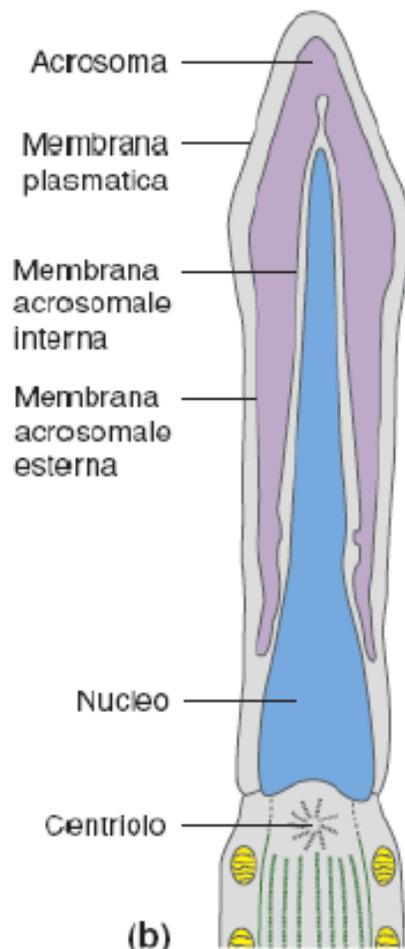
Acrosome Exocytosis

**Rilascio di enzimi litici
come l'acrosina mediante
la quale lo spermatozoo si
scava un passaggio nella
zona**

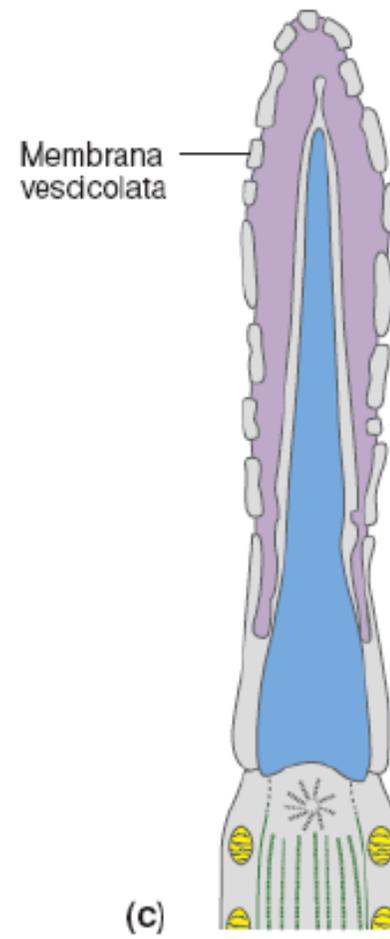




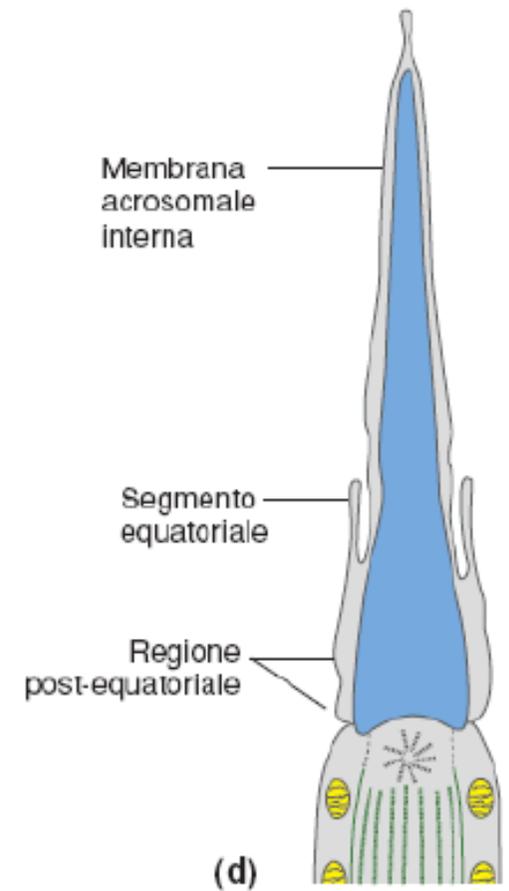
(a)



(b)



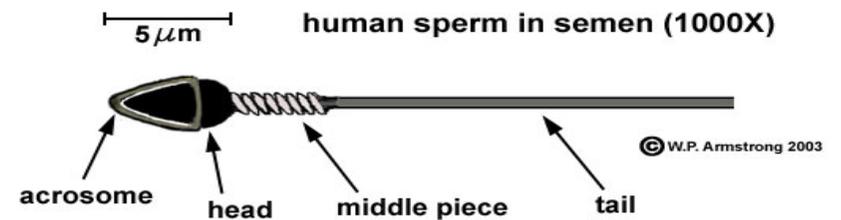
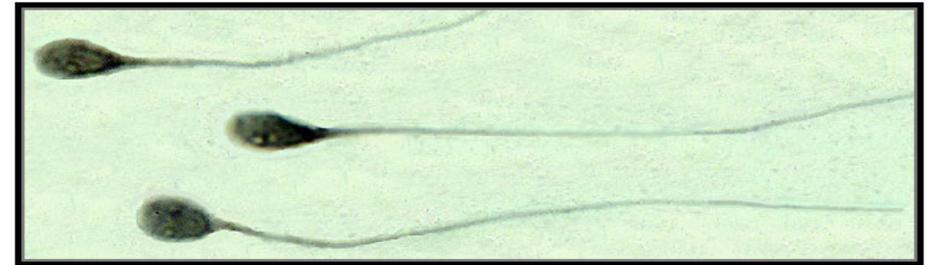
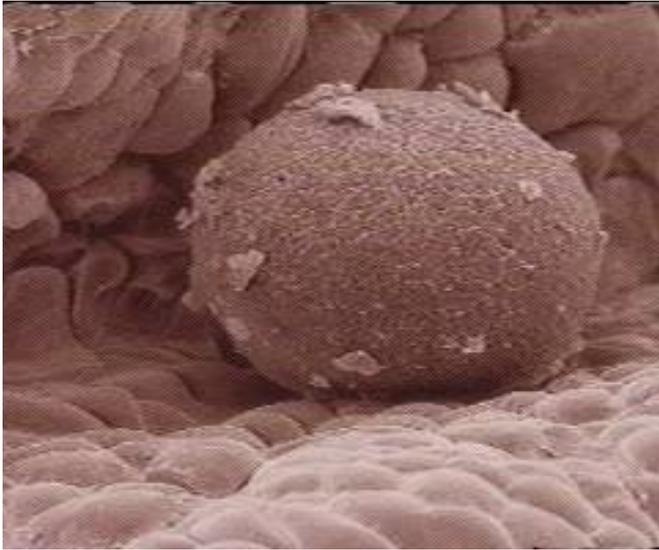
(c)



(d)

Figura 4.18 Reazione acrosomiale nei mammiferi. **(a)** immagine al microscopio elettronico a trasmissione di uno spermatozoo di cavia prima della reazione acrosomiale. A = acrosoma. **(b)** Disegno della testa dello spermatozoo prima della reazione acrosomiale, con la membrana plasmatica e l'acrosomiale interna ed esterna ancora intatte. **(c)** durante la reazione acrosomiale, la membrana plasmatica dello spermatozoo e la membrana acrosomiale esterna si fondono in molteplici punti, formando numerose vescicole. Notare come la fusione interessi sono la parte più apicale dell'acrosoma **(d)** Dopo la reazione acrosomiale, la membrana plasmatica dello spermatozoo consiste di 3 regioni: quella anteriore derivata da parte della membrana acrosomiale interna; un segmento equatoriale, ancora formato dalla membrana plasmatica e parte della membrana acrosomiale esterna, e la re-

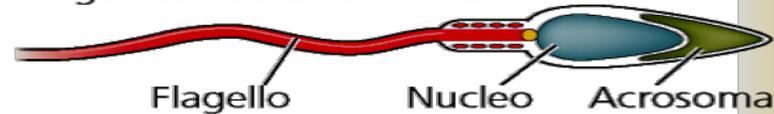
Interazione uovo-spermatozoo



(B) TOPO



(1) Spermatozoo attivato nelle vie genitali della femmina



(2) Lo spermatozoo si lega alla zona pellucida



(3) Reazione acrosomica



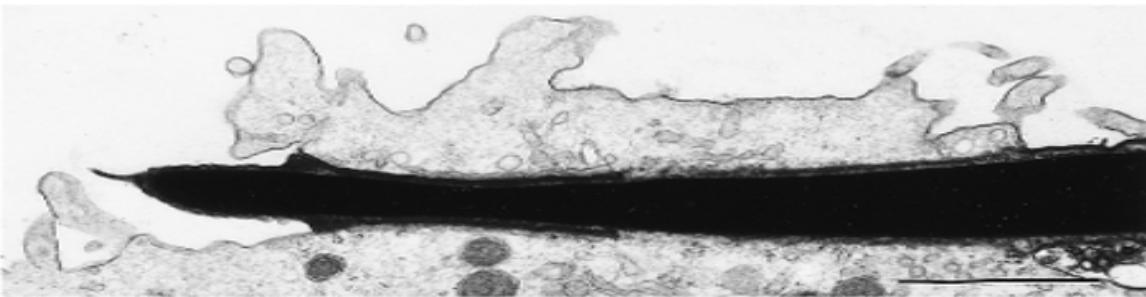
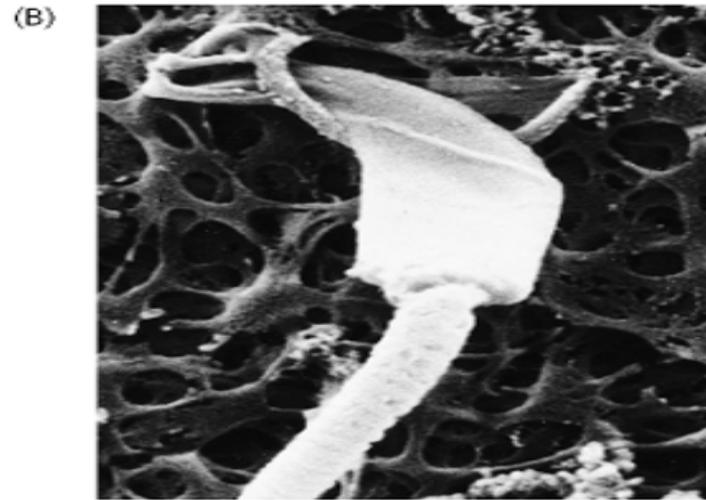
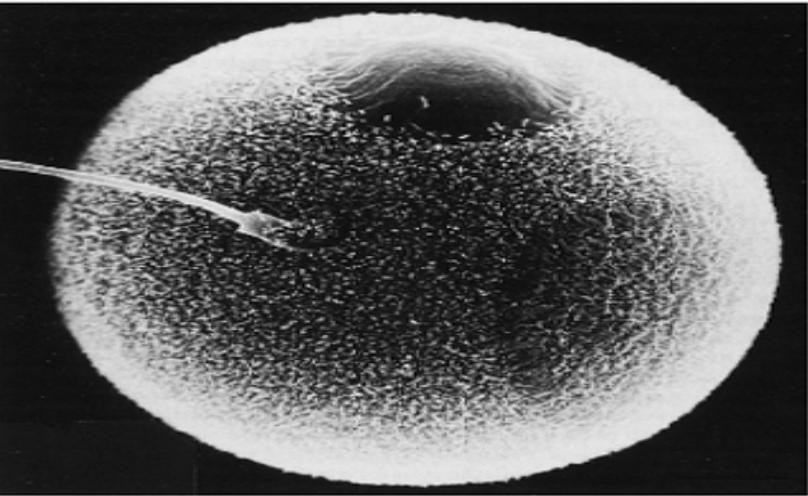
(4) Lo spermatozoo lisa un'apertura nella zona



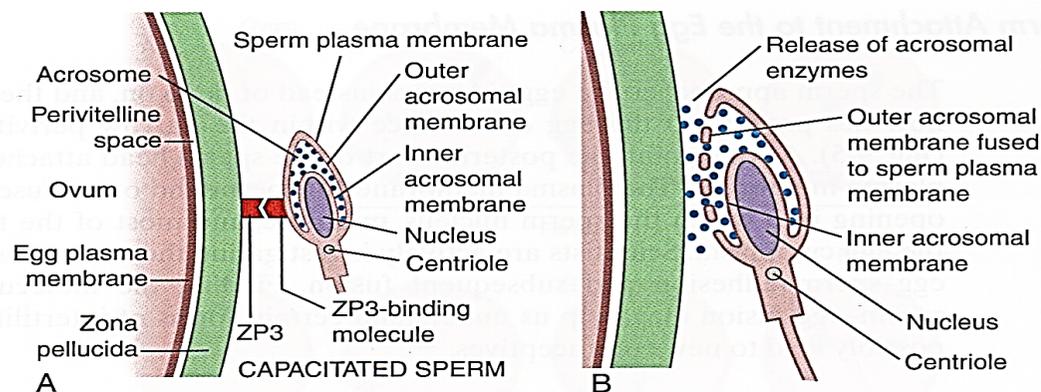
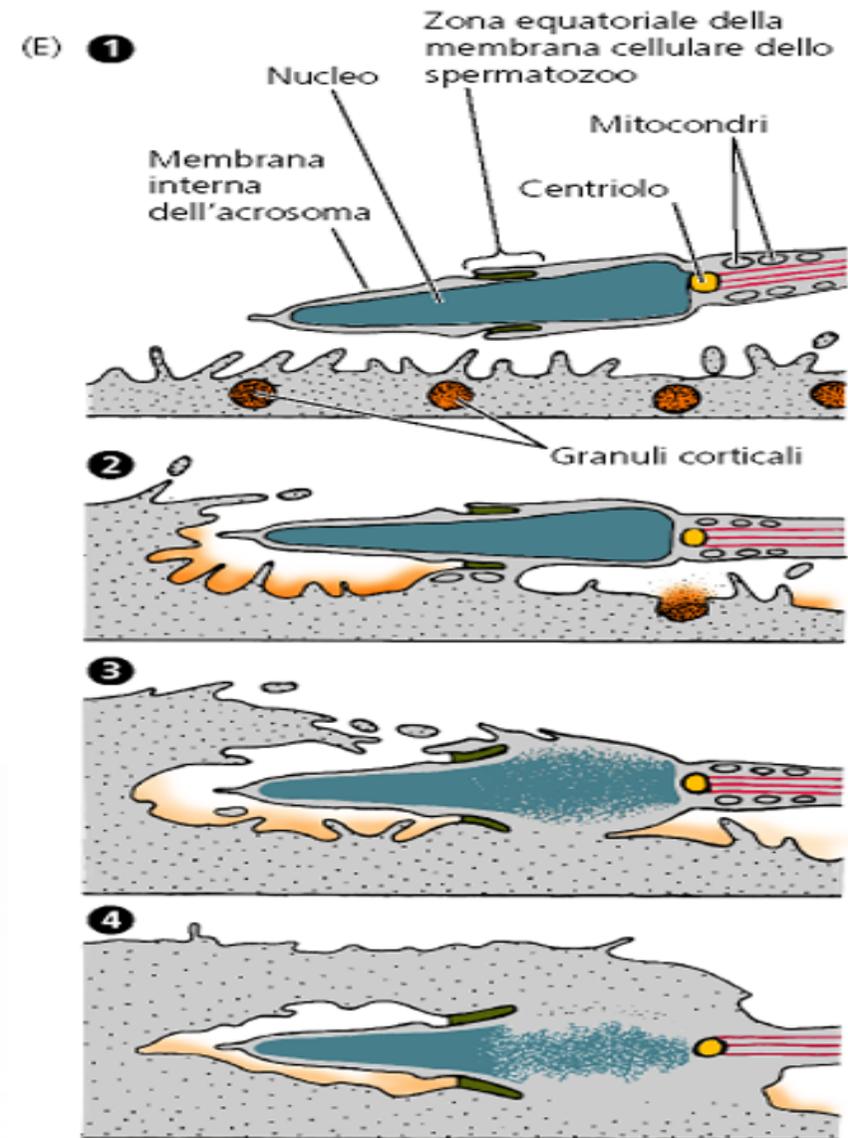
(5) Fusione delle membrane cellulari dello spermatozoo e dell'uovo



Interazione uovo-spermatozoo

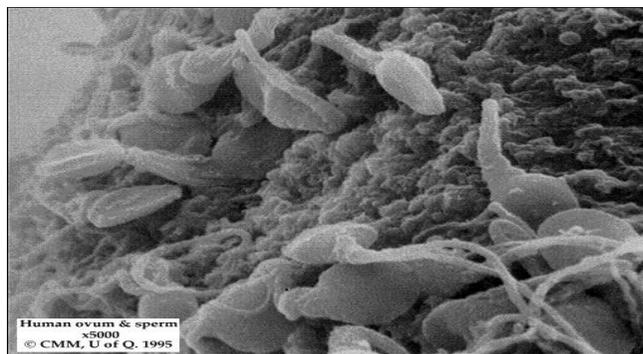


A differenza del riccio di mare, lo spermatozoo dei mammiferi si mette in contatto con l'uovo tangenzialmente





Legami spermatozoo-uovo



Primario: ZP3 e molecole sulla membrana plasmatica dello spermatozoo (galattosil-trasferasi, N-acetilglucosaminidasi). Una volta avvenuto il legame scatta la reazione acrosomiale

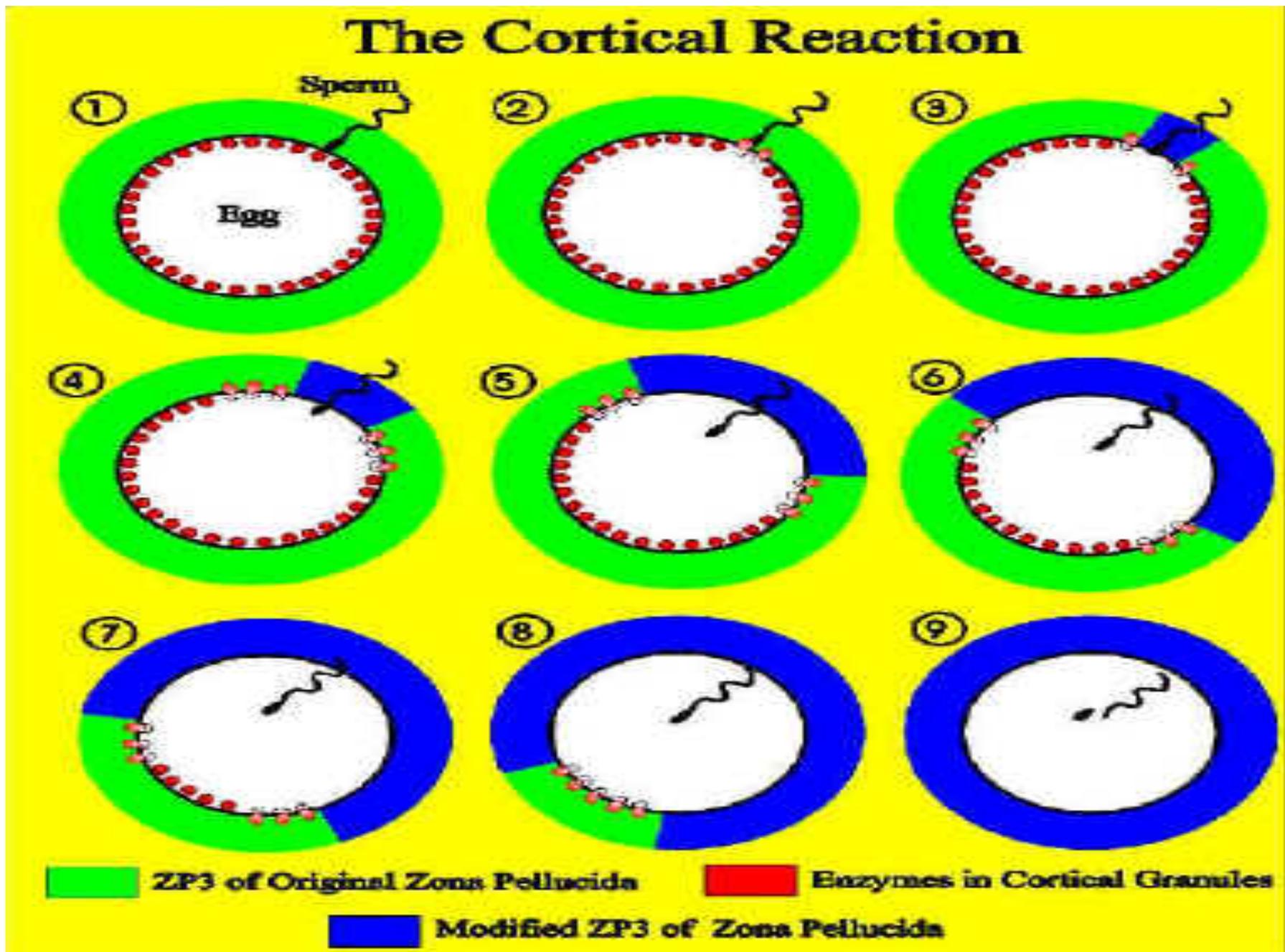
Secondario: lo spermatozoo, una volta avvenuta la reazione, deve passare attraverso la ZP, grazie alla spinta del flagello e al movimento oscillante della testa per legarsi alla membrana dell'uovo. La proteina PH 20 (nella cavia) della membrana acrosomiale interna lega lo spermatozoo alla ZP2. Nell'uomo è invece presente la SPAM-1 (sperm adhesion molecule-1), omologa della PH 20.

Fusione dei gameti: lo spermatozoo si trova ora nello spazio perivitellino e si deve legare alla m dell'uovo. La fertilina o PH 30 dello spermatozoo si lega alle integrine dell'uovo (?)

Reazione corticale e blocco della polispermia

La ZP3 viene modificata e la ZP2 scissa dagli enzimi rilasciati dai granuli corticali:

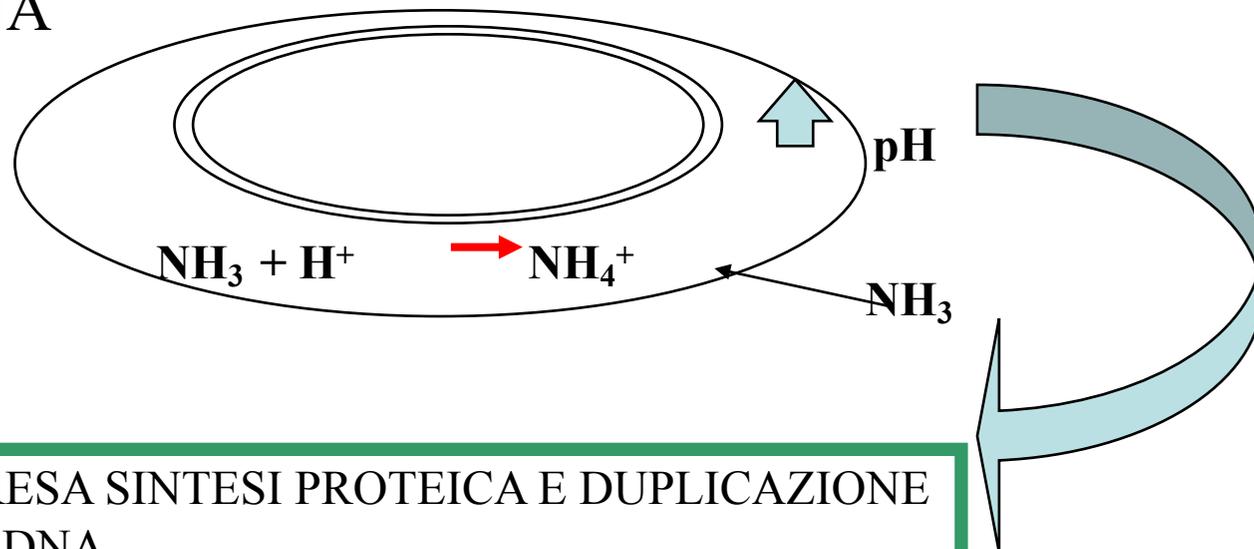
Nessun altro spermatozoo si può legare all'uovo



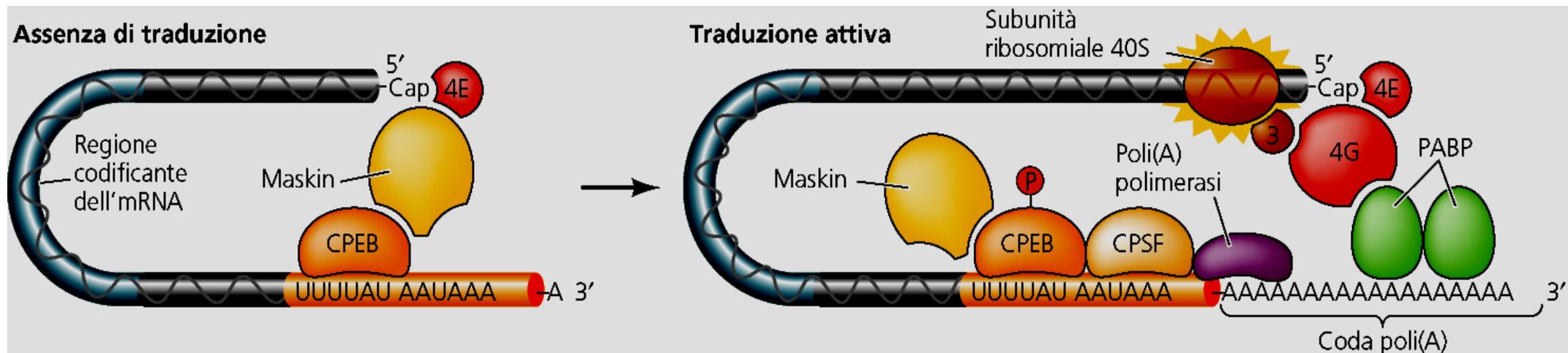
Come nel riccio di mare, l'esocitosi dei granuli corticali è innescata dalla liberazione di Ca^{+2}

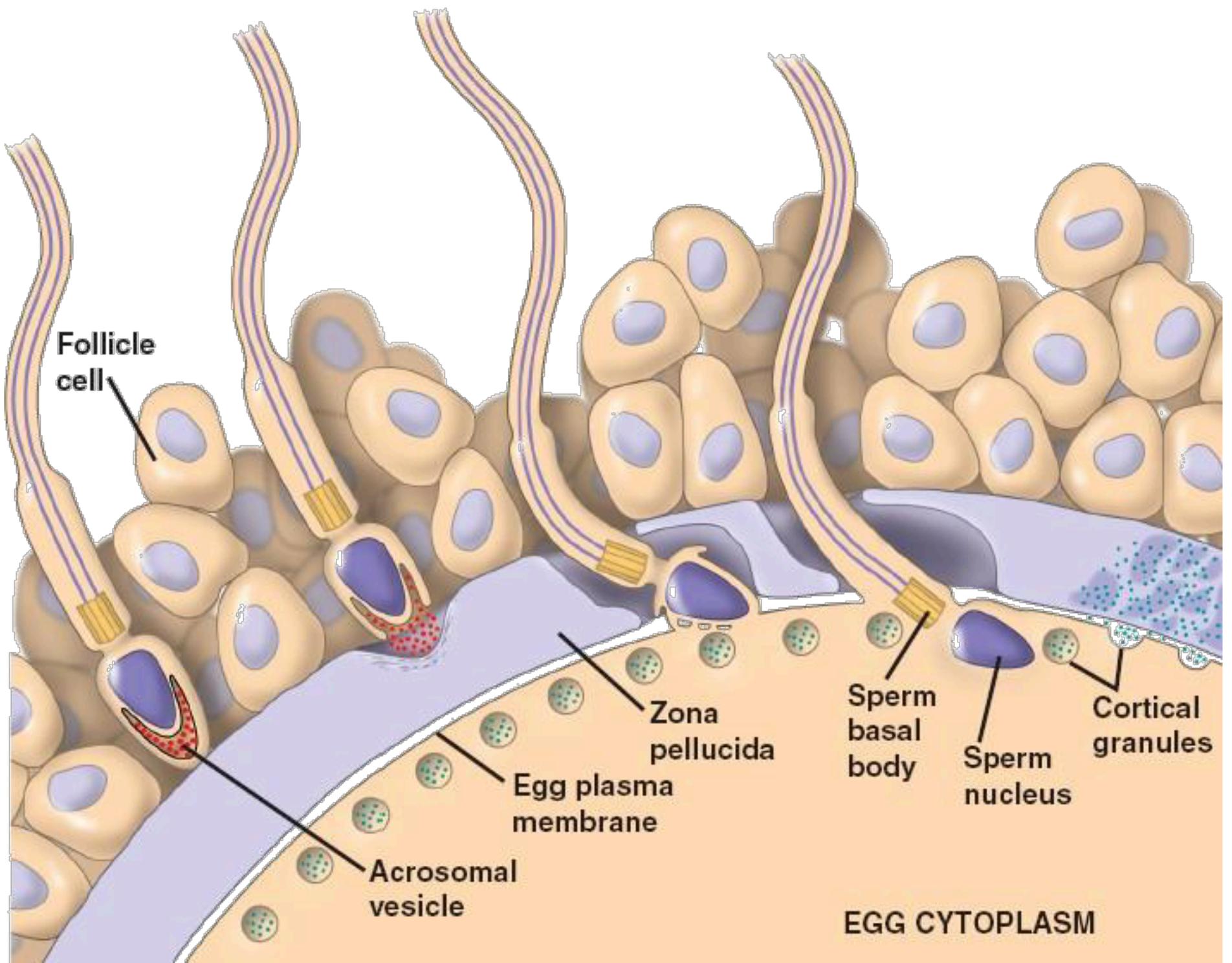
Ripresa metabolica

L'innalzamento del pH è responsabile dell'attivazione metabolica dell'uovo. Infatti uova tenute in H₂O priva di Na⁺ si attivano con l'NH₃ che penetra nel citoplasma e preleva H⁺ formando lo ione ammonio NH₄⁺ e facendo innalzare il pH. Le onde di Ca²⁺ dopo lo ingresso dello sp. inattivano le MAP chinasi consentendo la sintesi del DNA



Smascheramento dei messaggeri dopo la fecondazione





Legame dello spermatozoo alla membrana plasmatica dell'uovo

Afflusso di Na^+

Variazione del potenziale di membrana

Blocco veloce della polispermia

Trasduzione del segnale

Attivazione fosfolipasi C (,è presente anche nello sp.)

IP3

Liberazione di Ca^{+2}

Esocitosi granuli corticali

Blocco lento della polispermia

DAG

Attivazione della PKC

Scambio Na^+/H^+

Aumento pH cellulare

Sintesi proteica, del DNA etc.

?

Attivazione della NAD chinasi: lipidi ed O_2

Fecondazione *in vitro* (IVF)

La prima bambina concepita con l'IVF è nata in Inghilterra nel 1978 e si chiama Louise Brown.

FIVET ICSI

Diagnosi e inizio del trattamento

Questo primo processo dura tra 2 e 3 ore

1 Stimolazione

Si stimolano le ovaie con ormoni affinché producano follicoli.

2 Controllo

Tramite ecografia si controlla che le dimensioni e la quantità dei follicoli siano le adeguate.



Il Suo partner deve lasciare un campione di seme che analizzeremo per vedere se è utilizzabile



Estrazione degli ovuli trasferimento

Questo secondo processo dura tra 3 e 5 giorni

IL TRATTAMENTO È RACCOMANDABILE

- Quando c'è una quantità insufficiente di spermatozoi.
- Quando c'è ostruzione nelle tube di Falloppio.
- Dopo aver realizzato vari tentativi di inseminazione artificiale senza successo.

3 Estrazione

L'estrazione degli ovuli si realizza mediante aspirazione.

4 Fecondazione

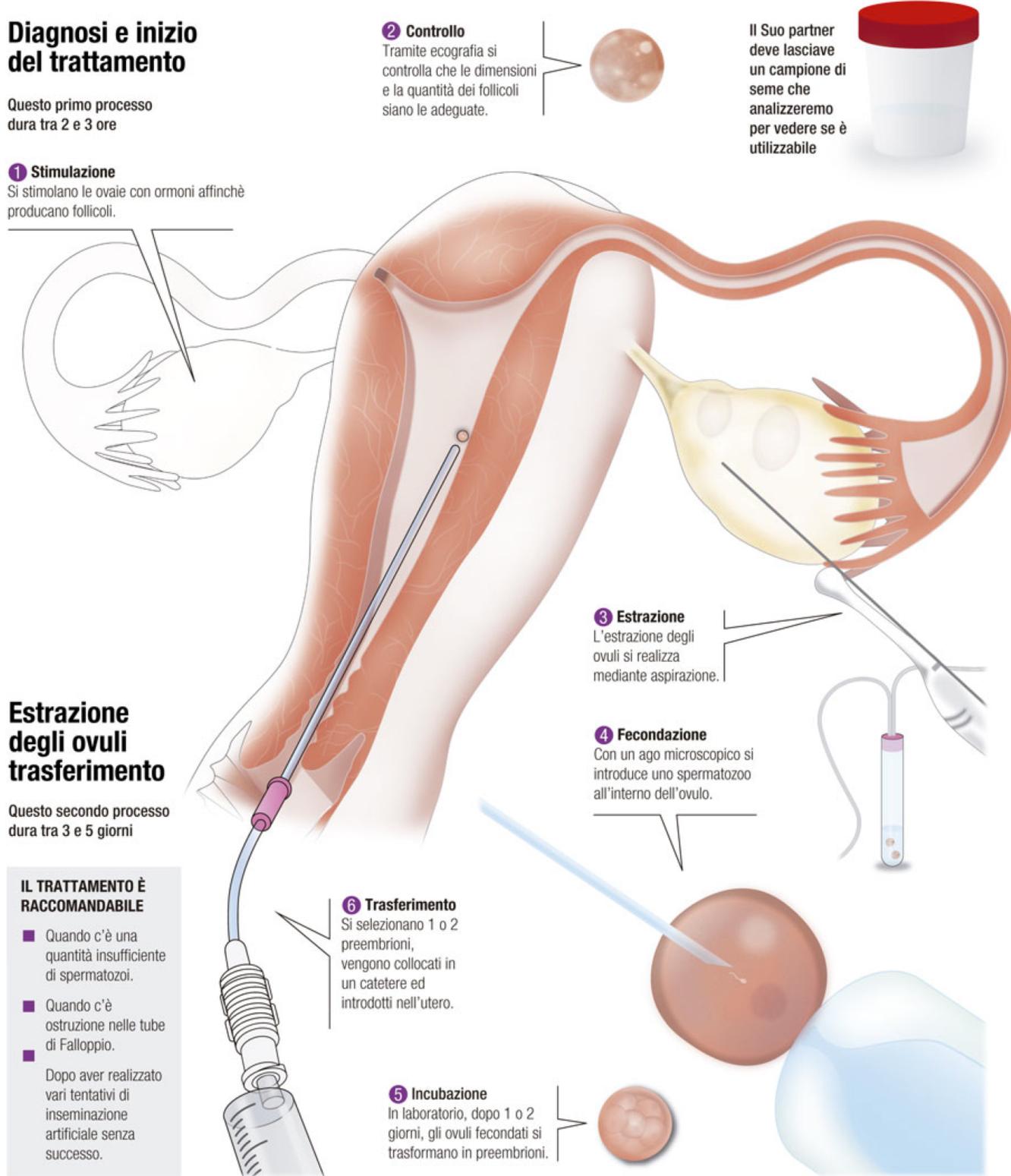
Con un ago microscopico si introduce uno spermatozoo all'interno dell'ovulo.

6 Trasferimento

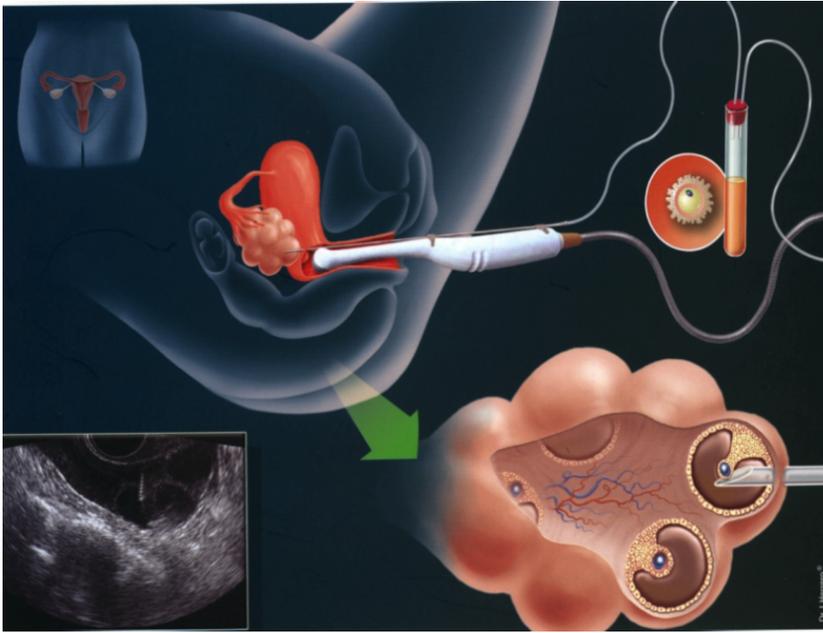
Si selezionano 1 o 2 preembrioni, vengono collocati in un catetere ed introdotti nell'utero.

5 Incubazione

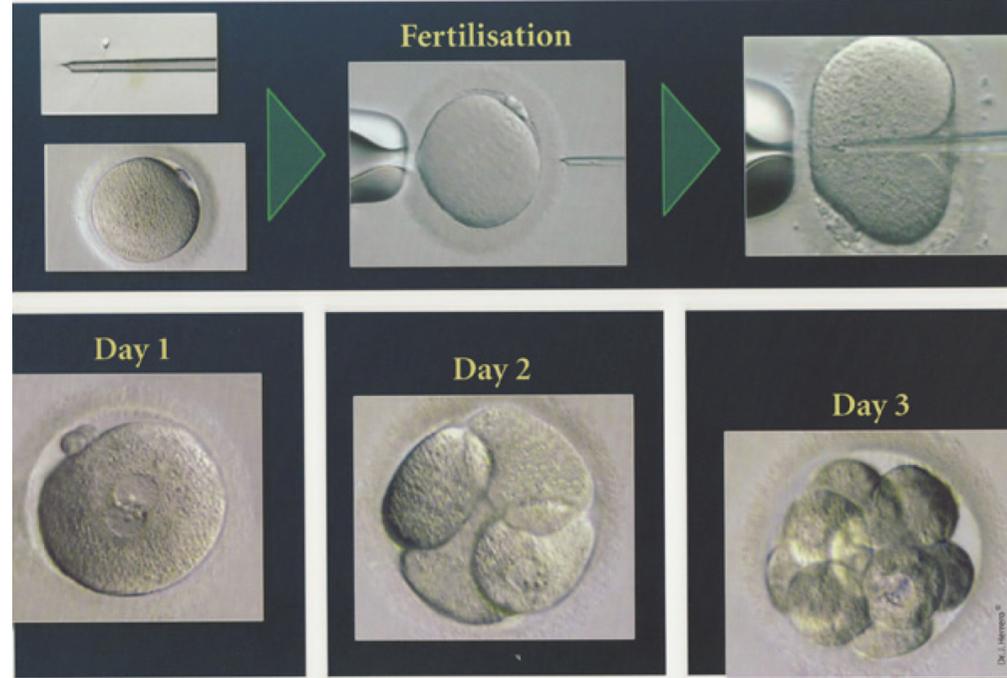
In laboratorio, dopo 1 o 2 giorni, gli ovuli fecondati si trasformano in preembrioni.



Pick-up degli oociti



ICSI and Embryo Development



Iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo



Impianto dell'embrione in utero



PARTENOGENESI

Naturale: -Obbligatoria (mancanza di partner)

-Occasionale o facoltativa (solo in particolari condizioni)

Komodo dragon



Bonnethead shark



Water flea



Bynoe's gecko



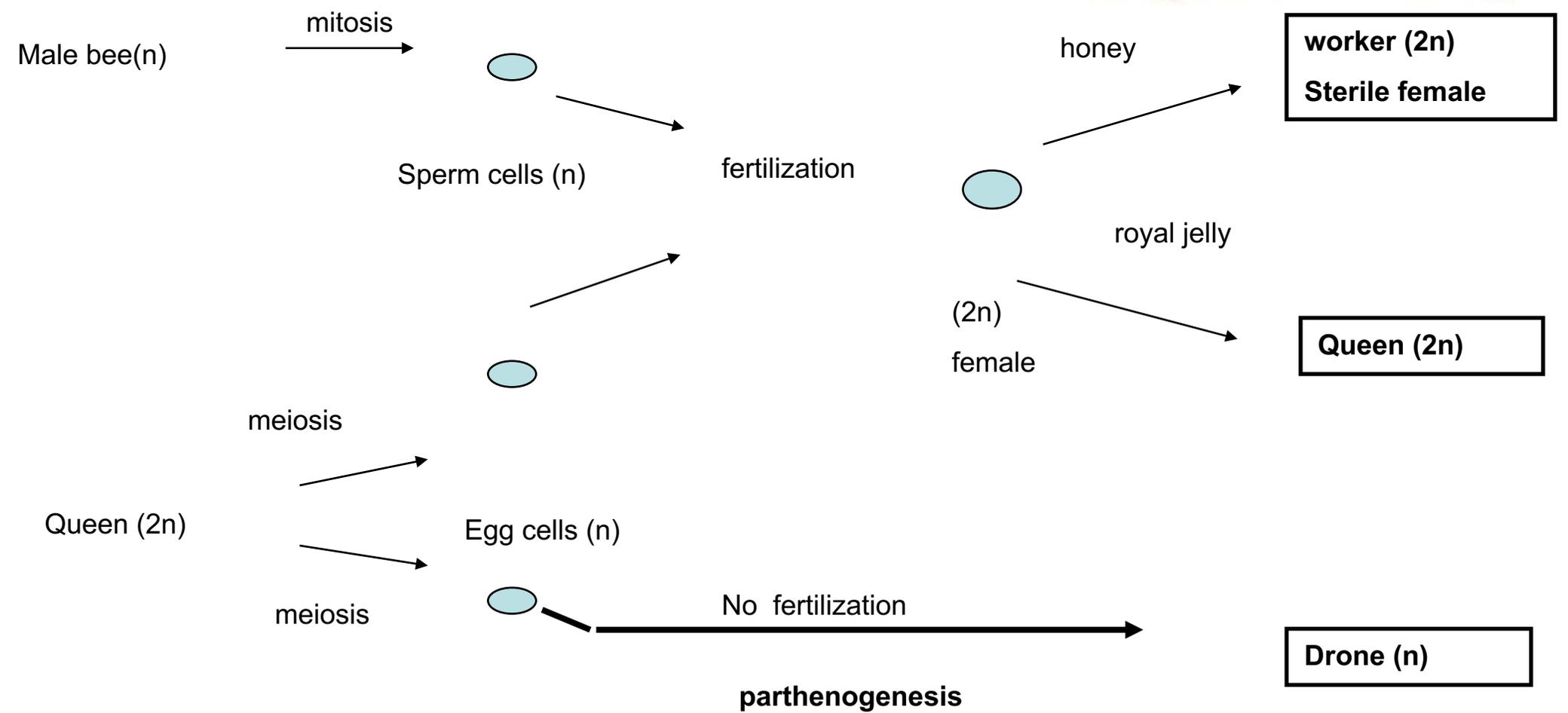
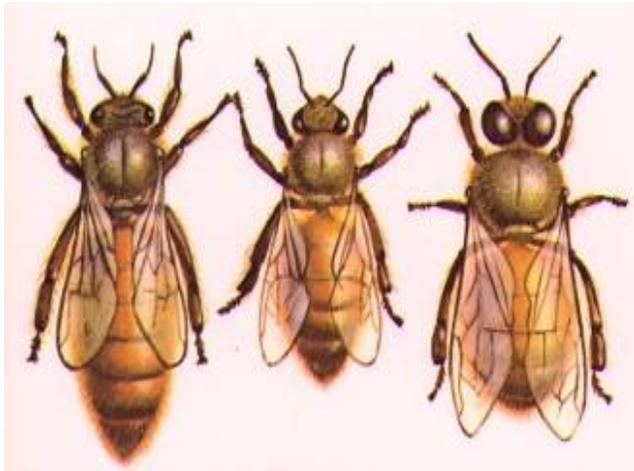
Warramaba virgo grasshopper



Mulga trees

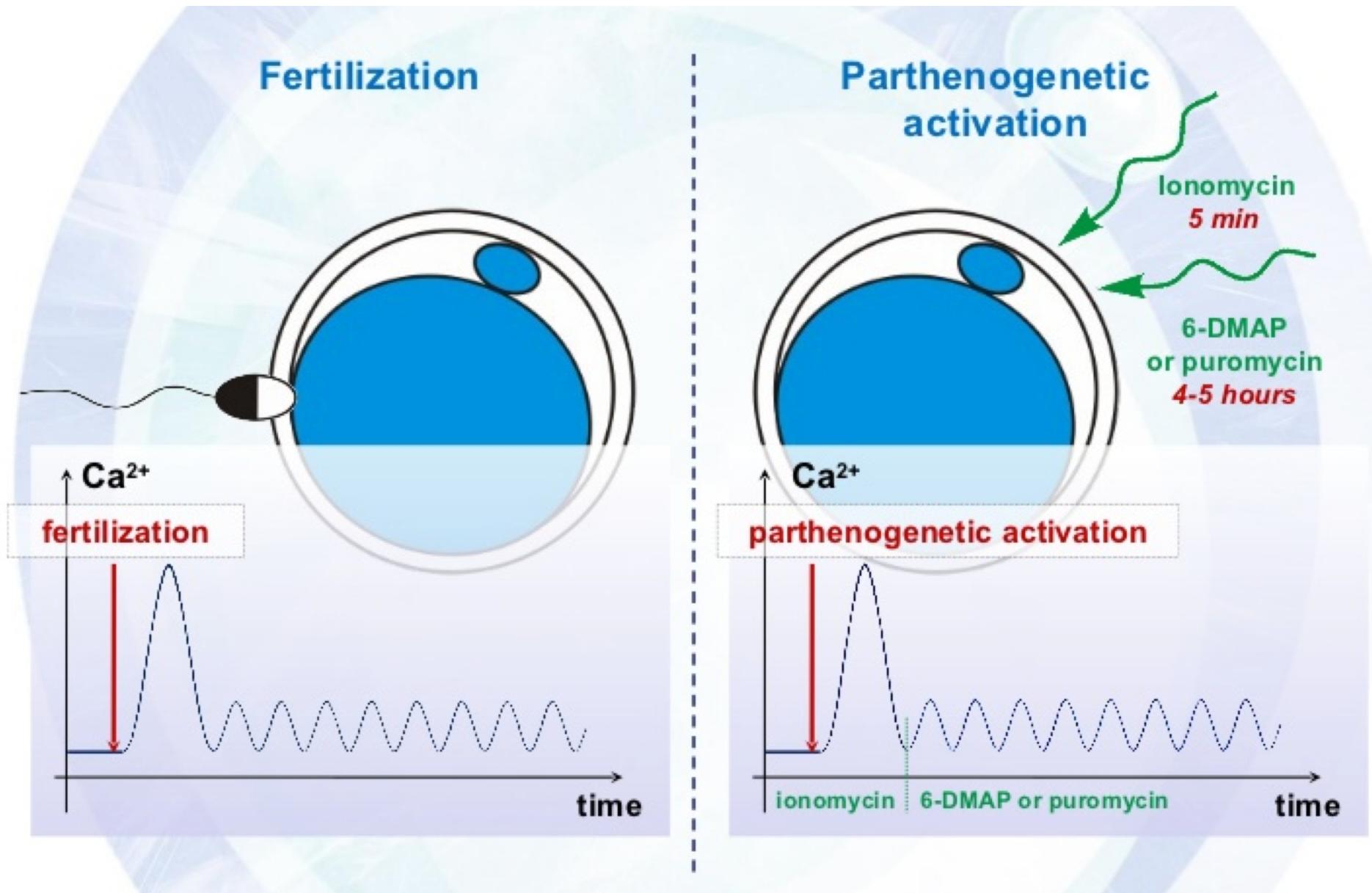


PARTENOGENESIS



PARTENOGENESIS

Sperimentale



PARTENOGENESIS

PARTHENOGENESIS

Unfertilised eggs have two complete sets of chromosomes



One set is expelled during fertilisation, but an electric or chemical shock can make the egg develop as if fertilised and retain the extra set



The resulting embryos usually die within days but stem cells can be extracted if they survive long enough



Parthenogenetic activation is a way to create pluripotent stem cells without disruption of the viable embryo

