

## «Γονιμοποίηση: η συνάντηση των δυο γενετικών κυττάρων»

Κωνσταντίνου Καλλιανίδη

Επ. Καθ. Μαιευτικής - Γυναικολογίας Πανεπ. Αθηνών

### A. ΣΥΝΑΝΤΗΣΗ ΤΩΝ ΓΑΜΕΤΩΝ

Τα ωάρια και τα σπερματοζωάρια, όντας τα ώριμα γεννητικά κύτταρα, έχουν ιδιαίτερα μορφολογικά, γενετικά και λειτουργικά γνωρίσματα. Ονομάζονται γαμέτες και είναι κύτταρα δυνητικά "αθάνατα" εάν επιτευχθεί η συνένωσή τους, ενώ δεν έχουν καμία προοπτική επιβίωσης εάν παραμείνουν ελεύθερα. Η ενεργοποίησή τους επιτυγχάνεται τη στιγμή της γονιμοποίησης, η οποία δηλώνει την αρχή της ζωής. Η πρώτη εβδομάδα του γονιμοποιημένου ωαρίου, που ονομάζεται επίσης ζυγώτης, είναι μια περίοδος ελεύθερης και ανεξάρτητης ζωής, ενώ από το χρονικό αυτό διάστημα και μετά η επιβίωση του εμβρύου εξαρτάται από την εμφύτευσή του στο ενδομήτριο.

Απαραίτητη προϋπόθεση για τη γονιμοποίηση αποτελεί η βιολογική ωρίμανση των γαμετών. Ωάρια και σπερματοζωάρια υφίστανται μια σειρά αλλαγών, αποτέλεσμα των οποίων θα είναι η ικανότητά τους για γονιμοποίηση. Έτσι η βιολογική ωρίμανση των ωοκυττάρων ολοκληρώνεται κατά τη διάρκεια της ωογένεσης, ενώ αυτή των σπερματοζωαρίων γίνεται κατά τη διέλευσή τους από την επιδιδυμίδα και το γεννητικό σύστημα της γυναίκας.

Η αναστολή της γονιμοποιητικής ικανότητας των σπερματοζωαρίων οφείλεται στην προσκόλληση του σπερματικού πλάσματος στην κυτταρική μεμβράνη. Η απόκτηση της γονιμοποιητικής ικανότητας των σπερματοζωαρίων απαιτεί ένα χρονικό διάστημα παραμονής επτά ωρών στο γεννητικό σύστημα της γυναίκας, όπου συντελείται η καθολική απομάκρυνση του σπερματικού πλάσματος και η ενεργοποίηση των σπερματοζωαρίων.

Η συνάντηση των γαμετών λαμβάνει χώρα στη λήκυθο του ωαγωγού, μετά την παθητική προώθηση του ωοκυττάρου και την ενεργητική μετανάστευση των σπερματοζωαρίων.

Το ωάριο είναι το μεγαλύτερο κύτταρο του οργανισμού (150μm), σε αντίθεση με το σπερματοζωάριο, το οποίο είναι ένα μικρό κύτταρο (κεφαλή του σπερματοζωαρίου 4x2μm), γεγονός που εξασφαλίζει τη δυνατότητα της ενεργητικής μετακίνησής του. Ο χρόνος ζωής του ωοκυττάρου μετά την ωοθυλακιορρηξία είναι 24 ώρες, ενώ τα σπερματοζωάρια παραμένουν ζωντανά στο γεννητικό σύστημα της γυναίκας για 48 ώρες.

Η σύλληψη του ωοκυττάρου από τους κροσσούς των σαλπίνγων γίνεται αμέσως μετά την ωοθυλακιορρηξία, όπου οι περισταλτικές κινήσεις των σαλπίνγων εξασφαλίζουν την παθητική προώθηση του ωαρίου μέχρι τη λήκυθο. Η

μετανάστευση των σπερματοζωαρίων δια μέσου του γεννητικού συστήματος της γυναίκας πραγματοποιείται με την ενεργητική μετακίνησή τους, παρά την αντίθετη πορεία των σαλπινγικών εκκρίσεων. Η απόσταση που χωρίζει τα σπερματοζωάρια από τον οπίσθιο κοιλικό θόλο, όπου βρίσκονται μετά την επαφή, μέχρι τη συνάντησή τους με το ωάριο στη λήκυθο, είναι 15 εκ. Το χρονικό διάστημα που απαιτείται για να διανύσουν τα σπερματοζωάρια την απόσταση αυτή είναι από μερικά λεπτά μέχρι μερικές ώρες.

Τα σπερματοζωάρια που θα φθάσουν στο ωοκύτταρο έχουν υποστεί προηγουμένως μιαν επιλογή. Έτσι από τα 300 εκατομμύρια σπερματοζωάρια της εκσπερμάτισης, μερικές εκατοντάδες μόνο θα φθάσουν μέχρι το ωοκύτταρο. Η επιλογή ωστόσο των σπερματοζωαρίων γίνεται κατά τη διέλευσή τους δια μέσου του γεννητικού συστήματος της γυναίκας, το οποίο λειτουργεί σαν ανατομικός και φυσιολογικός φραγμός, παρεμβαίνοντας σε τρία επίπεδα.

Ο κόλπος αποτελεί τον πρώτο φραγμό, όπου η επιβίωση των σπερματοζωαρίων δεν είναι ευνοϊκή, λόγω του όξινου περιβάλλοντος (pH=5). Ο δεύτερος φραγμός σχηματίζεται από τη βλέννα του τραχηλικού σωλήνα, η οποία σχηματίζει ένα δίκτυο από πλέγμα, του οποίου η διαπερατότητα ποικίλλει ανάλογα με τη φάση του κύκλου, παρεμποδίζοντας την άνοδο σπερματοζωαρίων με ανώμαλες μορφές. Ο τρίτος φραγμός για την άνοδο των σπερματοζωαρίων βρίσκεται στη μητρο-σαλπινγική ένωση. Τα σπερματοζωάρια συγκεντρώνονται στο επίπεδο του ισθμού και από εκεί απελευθερώνονται προοδευτικά (περίπου 200) για να φθάσουν στη λήκυθο.

Η φυσική επιλογή επομένως των υγιών σπερματοζωαρίων γίνεται κατά τη διέλευσή τους δια μέσου του γεννητικού συστήματος της γυναίκας, όπου υφίστανται μια σειρά φυσιολογικών μεταβολών, το σύνολο των οποίων συνιστά την ενεργοποίηση. Έτσι τα σπερματοζωάρια, τα οποία δεν θα διαπεράσουν την τραχηλική βλέννα, θα καταστραφούν στο όξινο περιβάλλον του κόλπου μισή ώρα μετά την εκσπερμάτιση, ενώ οι εκκρίσεις από τον τράχηλο και τη μήτρα ασκούν ευνοϊκή επίδραση στην επιβίωση και την ενεργοποίηση των σπερματοζωαρίων.

## **B. ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ**

Ως γονιμοποίηση ορίζεται η ένωση του ανδρικού και γυναικείου προπυρήνα, η οποία επέρχεται στο τέλος μιας σειράς φυσιολογικών, κυτταρολογικών και βιοχημικών φαινομένων, αποσκοπώντας στη δημιουργία ενός νέου ατόμου, από δυο κύτταρα υψηλής εξειδίκευσης. Η επίτευξη της γονιμοποίησης απαιτεί την ενεργοποίηση του σπερματοζωαρίου και την ωρίμανση του ωοκυττάρου. Ωστόσο η αλληλεπίδραση ωοκυττάρου/σπερματοζωαρίου εξαρτάται από μια σειρά αλλαγών που αφορούν άλλοτε το ωάριο και άλλοτε το σπερματοζωάριο.

Το πρώτο στάδιο της γονιμοποίησης είναι η διέλευση του σπερματοζωαρίου δια μέσου του ακτινωτού στεφάνου. Ο ακτινωτός στέφανος αποτελεί τον πρώτο φραγμό

που προστατεύει το ωοκύτταρο και μόνο τα ενεργοποιημένα σπερματοζωάρια θα κατορθώσουν να τον διαπεράσουν.

Το δεύτερο στάδιο της γονιμοποίησης είναι η διάτρηση της διαφανούς ζώνης. Η αναγνώριση από το σπερματοζωάριο της διαφανούς ζώνης αποτελεί καθοριστικό σημείο της γονιμοποίησης και βασίζεται στην αλληλεπίδραση των συμπληρωματικών μορίων που βρίσκονται στην επιφάνεια του σπερματοζωαρίου αφ' ενός, στη διαφανή ζώνη και την κυτταρική μεμβράνη του ωοκυττάρου αφ' ετέρου. Έτσι, ενώ πολλά σπερματοζωάρια διαπερνούν τη διαφανή ζώνη μόνο ένα θα διεισδύσει στο ωοκύτταρο.

Με την αναγνώριση της διαφανούς ζώνης από το σπερματοζωάριο ενεργοποιούνται οι υποδοχείς στην επιφάνεια του σπερματοζωαρίου και οι γλυκοπρωτεΐνες της διαφανούς ζώνης. Η λύση της διαφανούς ζώνης με την απελευθέρωση των πρωτεολυτικών ενζύμων του ακροσώματος, καθώς επίσης η υπερκινητικότητα που αποκτά το σπερματοζωάριο κατά την ακροσωμιακή αντίδραση, αποτελούν τις δυο προϋποθέσεις για τη διέλευση του σπερματοζωαρίου δια μέσου της διαφανούς ζώνης.

Με την είσοδο του σπερματοζωαρίου στο ωοκύτταρο επέρχεται αλλαγή της δομής της διαφανούς ζώνης, η οποία έχει ως αποτέλεσμα να καθίσταται αδιαπέραστη από άλλα σπερματοζωάρια.

Το τρίτο στάδιο της γονιμοποίησης είναι η συνένωση των κυτταρικών μεμβρανών του ωοκυττάρου και του σπερματοζωαρίου και ο σχηματισμός των δυο προπυρήνων. Ένα μόνο σπερματοζωάριο, διατιτραίνοντας τη διαφανή ζώνη, εισέρχεται στον περιληκθυτικό χώρο, όπου ακινητοποιείται. Με τη βοήθεια ουσιών, όπως η φιμπρονεκτίνη και η φερτιλίνη, πραγματοποιείται η συνένωση των κυτταρικών μεμβρανών των γαμετών, δίνοντας το έναυσμα στο επίπεδο του ωοκυττάρου για μια σειρά από βιοχημικές και ηλεκτρικές μεταβολές.

Αποτέλεσμα αυτών των μεταβολών είναι : α) η αντίδραση του φλοιού, β) η ολοκλήρωση της δεύτερης μειωτικής διαίρεσης και γ) ο σχηματισμός των δυο προπυρήνων.

α) Η αντίδραση του φλοιού συνίσταται στην απελευθέρωση λυσοσωματικών ενζύμων από τα κοκκία του φλοιού του ωοκυττάρου, με αποτέλεσμα την τροποποίηση της μοριακής δομής της διαφανούς ζώνης, καθιστώντας την αδιαπέραστη στα υπεράριθμα σπερματοζωάρια.

β) Η ενεργοποίηση του ωοκυττάρου II, μετά την είσοδο του σπερματοζωαρίου, συνεχίζεται με την ολοκλήρωση της δεύτερης μειωτικής διαίρεσης και το σχηματισμό των δυο θυγατρικών κυττάρων διαφορετικού μεγέθους. Το ένα από τα θυγατρικά κύτταρα διατηρεί το σύνολο του κυτταροπλάσματος του ωοκυττάρου II και είναι το ώριμο ωάριο, ενώ το δεύτερο θυγατρικό κύτταρο λαμβάνει κυρίως το υλικό του πυρήνα με ελάχιστο κυτταρόπλασμα και είναι το δεύτερο πολικό σωματίο.

γ) Ο σχηματισμός των προπυρήνων αρχίζει να εμφανίζεται με τη διάλυση της πυρηνικής μεμβράνης του σπερματοζωαρίου. Ο άρρην προπυρήνας έρχεται σε επαφή με το θήλυ προπυρήνα, ενώ χάνουν τα πυρηνικά περιβλήματά τους και αρχίζει ο διπλασιασμός της ποσότητας του DNA. Στη συνέχεια τα 23 πατρικά και τα 23 μητρικά χρωματοσώματα τοποθετούνται στην άτρακτο, προετοιμαζόμενα για τη μιτωτική διαίρεση, όπου διαχωρίζονται κατά τον επιμήκη άξονά τους, ενώ ταυτόχρονα κινούνται προς τους αντίθετους πόλους του ωοκυττάρου. Στο σημείο αυτό εμφανίζεται μια βαθιά αύλακα, η οποία χωρίζει προοδευτικά το κυτταρόπλασμα σε δυο μέρη, οπότε δημιουργούνται δυο κύτταρα. Έτσι σχηματίζεται ο ζυγώτης 30 ώρες μετά τη γονιμοποίηση. Στόχος του πολύπλοκου αυτού φαινομένου είναι κάθε ζυγώτης να περιέχει τον κανονικό διπλοειδή αριθμό χρωματοσωμάτων και την κανονική ποσότητα DNA.

Η γονιμοποίηση επομένως καταλήγει στην ένωση του αρσενικού και θηλυκού προπυρήνα, γεγονός το οποίο συνεπάγεται:

1. την αποκατάσταση του διπλοειδούς αριθμού των χρωμοσωμάτων,
2. τον καθορισμό του φύλου του νέου ατόμου, χάριν της επανασύνδεσης δυο διαφορετικών γενετικών προγραμμάτων.

Το χρωματοσωμικό φύλο του εμβρύου καθορίζεται τη στιγμή της γονιμοποίησης. Ένα σπερματοζωάριο που φέρει X-φυλετικό χρωμόσωμα θα δώσει θήλυ (XX) έμβρυο, ενώ ένα σπερματοζωάριο που φέρει Y-φυλετικό χρωμόσωμα, θα δώσει άρρην (XY) έμβρυο. Η γονιμοποίηση δίνει το έναυσμα μιας σειράς κυτταρικών διαιρέσεων αλλά και μιας διαδοχικής διαφοροποίησης, η οποία αποτελεί τη βάση τόσο της ανάπτυξης, όσο και της γήρανσης του νέου οργανισμού. Εφ' όσον το ωοκύτταρο δε γονιμοποιηθεί εκφυλίζεται 24 ώρες μετά την ωοθυλακιορρηξία.

Οι κυτταρικές διαιρέσεις αυξάνουν αμέσως μετά το σχηματισμό του ζυγώτη, με αποτέλεσμα τη μεγάλη αύξηση του αριθμού των κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά, που ονομάζονται πλέον βλαστομερίδια, μετά από κάθε διαίρεση καθίστανται μικρότερα σε όγκο, λόγω του περιορισμένου χώρου με τη διατήρηση της διαφανούς ζώνης. Τρεις ημέρες μετά τη γονιμοποίηση ο ζυγώτης έχει φθάσει στο στάδιο του μοριδίου, έτοιμος να εισέλθει στην ενδομητρική κοιλότητα. Κατά την περίοδο αυτή το μορίδιο αποτελείται από 12 έως 16 κύτταρα, τα οποία είναι τοποθετημένα σε μια κεντρική και μια περιφερική στιβάδα. Η κεντρική στιβάδα συνιστά την εσωτερική κυτταρική μάζα και θα σχηματίσει την τροφοβλάστη, από την οποία θα προέλθει ο πλακούντας.

Με την είσοδο του μοριδίου στην ενδομητρική κοιλότητα (3-4 ημέρες μετά τη γονιμοποίηση) αρχίζει να διεισδύει υγρό στους μεσοκυττάριους χώρους της έσω κυτταρικής μάζας μέσω της διαφανούς ζώνης. Προοδευτικά οι χώροι που είναι γεμάτοι με υγρό ενώνονται και σχηματίζεται μια κοιλότητα, η οποία ονομάζεται βλαστοκώλη. Οι αλλαγές αυτές μεταβάλλουν το μορίδιο σε μια βλαστοκύστη. Η

βλαστοκύστη μετά την απώλεια της διαφανούς ζώνης, στο τέλος της πρώτης εβδομάδας της γονιμοποίησης, θα αρχίσει να εμφυτεύεται στο ενδομήτριο.

### **Γ. ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ**

Η εμφύτευση του εμβρύου αποτελεί τη συνισταμένη μιας σειράς γεγονότων, τα οποία συνεργούν στη διείδυση της τροφοβλάστης κατ' αρχήν στο ενδομήτριο και στη συνέχεια στο αρτηριακό σύστημα της μήτρας. Το φαινόμενο αυτό επιτρέπει την εγκατάσταση του εμβρύου μέσα στο τοίχωμα της μήτρας, τη διατήρηση της κύησης και την αύξηση του εμβρύου με την ανάπτυξη του πλακούντα.

Η εμφύτευση, δεδομένου ότι είναι μια διαδικασία πολύπλοκη, επιτυγχάνεται σε μια καθορισμένη ορμονική φάση, η οποία είναι περιορισμένη μέσα στο χρόνο και ανταποκρίνεται στην περίοδο της μέγιστης υποδεκτικότητας του ενδομητρίου. Επομένως ο συγχρονισμός και η αλληλεπίδραση μεταξύ του εμβρύου και του ενδομητρίου αποτελεί προϋπόθεση για την ολοκλήρωση του φαινομένου της εμφύτευσης.

Το ενδομήτριο αποτελεί τον εσωτερικό χιτώνα της μήτρας, καλύπτεται από κυλινδρικό επιθήλιο και συνδετικό ιστό (χόριο πλούσιο σε αγγεία και αδένες). Η χαρακτηριστική ιδιότητα του ενδομητρίου είναι η ικανότητά του να φθαρτοποιείται, οπότε υπό την επίδραση της προγεστερόνης παρατηρείται μια υπερπλασία (πολλαπλασιασμός) και μια υπερτροφία (αύξηση του μεγέθους) των κυττάρων του χορίου. Κατά τη χρονική στιγμή της εμφύτευσης το ενδομήτριο βρίσκεται σε εκκριτική φάση, κατά τη διάρκεια της οποίας οι ενδομητριοί αδένες και οι αρτηρίες γίνονται ελικοειδείς, ενώ ο ιστός γίνεται οιδηματώδης.

Το ενδομήτριο, εκτός από τη φθαρτοποίηση, υφίσταται σε έναν πρώτο χρόνο μορφολογικές και βιοχημικές αλλαγές, από τις οποίες θα προκύψει το "παράθυρο" της εμφύτευσης, αποτέλεσμα ενός απόλυτου συγχρονισμού μεταξύ του υπό ανάπτυξη εμβρύου και της ενδομητρικής ωριμότητας.

Στην εξέλιξη του φαινομένου, τα κύτταρα του φθαρτού θα παίξουν σημαντικό ρόλο με την έκκριση των αυξητικών παραγόντων, την παραγωγή των κυτοκινών, των ιντεγκρινών και των μεταλλοπρωτεασών. Σε έναν τρίτο και τελευταίο χρόνο, για την ολοκλήρωση της εμφύτευσης θα ακολουθήσουν οι αλλαγές του αγγειακού συστήματος της μήτρας, οι οποίες θα ικανοποιήσουν τις πρώτες ανάγκες διατροφής της εμβρυοπλακουντικής μονάδας.

Το γονιμοποιημένο ωάριο μεταναστεύει από τη σάλπιγγα στην ενδομητρική κοιλότητα την τέταρτη με πέμπτη ημέρα από τη γονιμοποίηση, έχοντας φθάσει στο στάδιο του μοριδίου. Τη στιγμή αυτή χαρακτηριστική είναι η διαφοροποίηση του μοριδίου σε δυο ομάδες κυττάρων:

α) την τροφοβλάστη, η οποία αποτελείται από ένα μονόστοιβο επιθήλιο εξωτερικά και περιβάλλει μια κοιλότητα, τη βλαστοκλήλη,

β) την εσωτερική κυτταρική μάζα, από την οποία θα σχηματιστεί αργότερα το έμβρυο και τα εξαρτήματά του.

Η βλαστοκύστη περιβάλλεται από τη διαφανή ζώνη, έχει διάμετρο 120 μ. και παραμένει ελεύθερη μέσα στην κοιλότητα της μήτρας για πέντε περίπου ημέρες. Κατά την περίοδο αυτή αριθμεί 400 κύτταρα και είναι αντικείμενο έντονης μιτωτικής δραστηριότητας. Είναι η χρονική στιγμή της αποβολής της διαφανούς ζώνης και της εκκόλαψης, η οποία ευνοείται από την παρουσία πρωτεολυτικών παραγόντων. Η πρωτεολυτική δραστηριότητα των κυττάρων του εμβρυϊκού δίσκου πιθανολογείται ότι ευνοεί επίσης το μηχανισμό της εμφύτευσης. Η βλαστοκύστη, στερούμενη πλέον της διαφανούς ζώνης, είναι έτοιμη για την εμφύτευση, για την προσκόλληση δηλαδή και τη διείσδυση στο ενδομήτριο. Τα επιθηλιακά κύτταρα του βλεννογόνου της μήτρας μετατρέπονται σε εκκριτικά και οι αδένες παράγουν βλενώδεις ουσίες και γλυκογόνο. Τη στιγμή που η βλαστοκύστη επικάθεται στο ενδομήτριο παρατηρείται μια διαφοροποίηση του επιθηλίου. Το γλυκογόνο αυξάνει και ενεργοποιούνται ένζυμα, όπως η γλουταμινική τρανσπεπτιδάση και η μονοαμινική οξειδάση. Οι βιοχημικές αυτές αλλαγές αποσκοπούν στη διευκόλυνση της προσκόλλησης της βλαστοκύστης. Τα τροφοβλαστικά κύτταρα διεισδύουν ανάμεσα στα επιθηλιακά κύτταρα του στρώματος του ενδομητρίου.

Η βλαστοκύστη προσκολλάται στο ενδομήτριο με τον εμβρυϊκό πόλο. Η αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών και η τροποποίηση του στρώματος στην περιοχή του ενδομητρίου όπου προσκολλάται η βλαστοκύστη δημιουργούν τη "φθαρτοειδή" αντίδραση του ενδομητρίου. Το ενδομήτριο αυτό που ονομάζεται "φθαρτός", χαρακτηρίζεται από τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των ινοβλαστών του στρώματος. Τα κύτταρα αυτά μεγαλώνουν, γίνονται ωσειδή ή ανώμαλα πολυεδρικά, γεμίζουν με γλυκογόνο και παίρνουν όψη επιθηλίου. Οι αδένες επιμηκύνονται και διατείνονται κατά τη μεσότητα, ενώ παρατηρείται μείωση του πληθυσμού των λεμφοκυττάρων (T και B) και αύξηση του αριθμού των μακροφάγων.

Η εμφύτευση του εμβρύου στο βλεννογόνο της μήτρας προϋποθέτει μια σειρά γεγονότων, τα οποία βρίσκονται σε άρρηκτη σχέση μεταξύ τους, προκειμένου να ολοκληρωθεί επιτυχώς το φαινόμενο της εμφύτευσης. Οι προϋποθέσεις επομένως για την εμφύτευση του εμβρύου είναι:

1. η ορμονική προετοιμασία της μήτρας,
2. η εκκριτική δραστηριότητα τόσο του ενδομητρίου όσο και του εμβρύου,
3. η τοπική μείωση των ανοσολογικών μηχανισμών.