

# ***ALLGEMEINE EMBRYOLOGIE***



***GAMETOGENESE,  
FERTILISATION,  
FURCHUNG***

---

***Dr. Andrea D. Székely***

***Semmelweis Universität***

***Medizinische Fakultät***

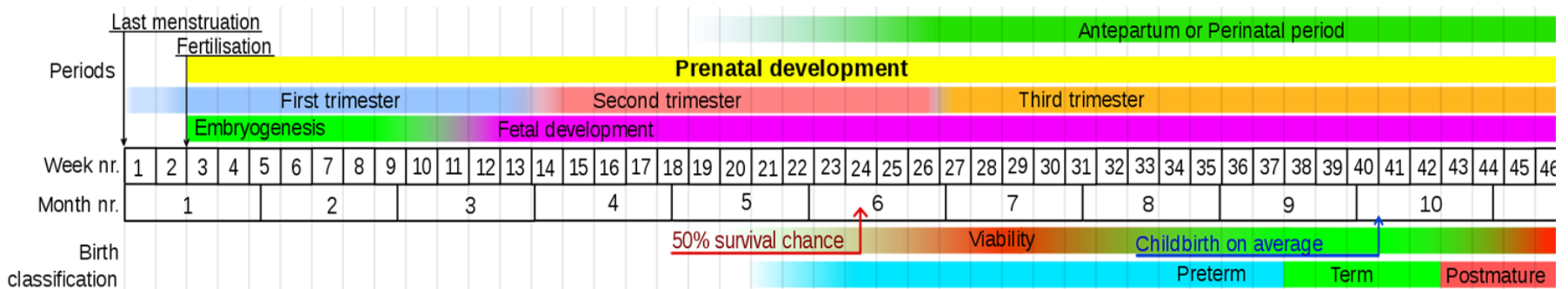
***Institut für Anatomie, Histologie und Embryologie***

***Budapest***



# EMBRYOLOGIE

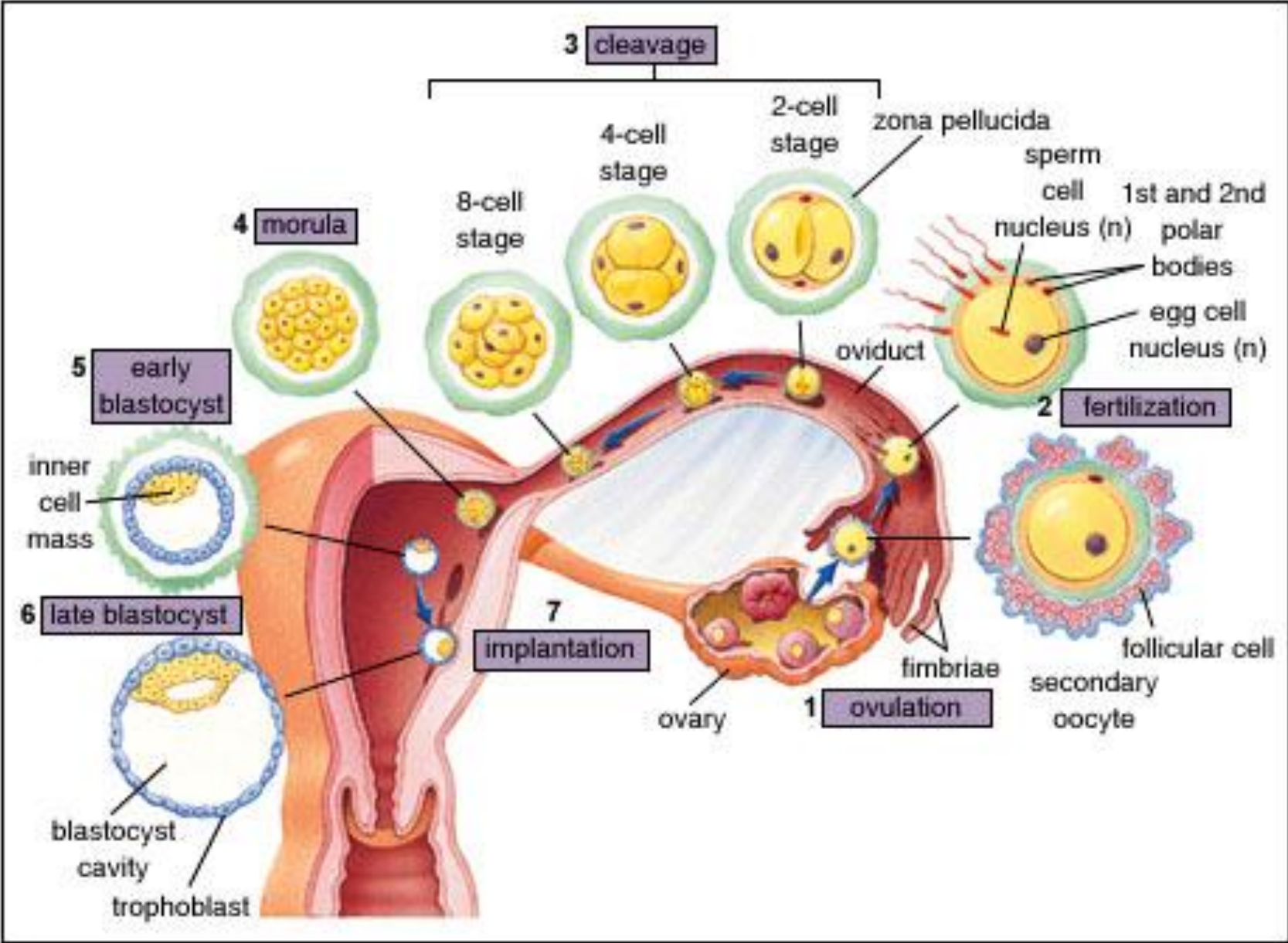
- Wissenschaft das sich mit der Entwicklung der befruchteten Eizelle und des daraus entstehenden Embryos beschäftigt
- Pränatal bedeutet vor der Geburt  
(bzw *perinatal* und *postnatal*)
- 38 Wochen ab Fertilization “ *fetaler*” Alter
- 40 Wochen ab LMP (*letzte Regelblutung*) “*Gestationsalter*  
(Frauenärztlicher Geburtsterminrechner)
  - Zeit der Befruchtung ist nicht einfach zu berechnen
  - etwa 2 Wochen vor der Ovulation



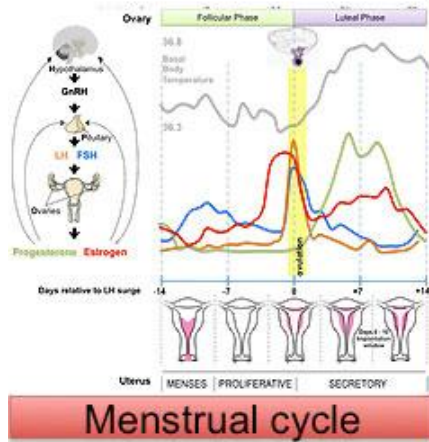
# GRUNDBEGRIFFE - LERNZIELE

- Bildung der Keimdrüsen (XX, XY)
- Mitose, Meiose, crossing over (*genetische Variabilität*)
- Gametentypen, Entwicklung, Unterschiede (zB Zahl: 4:1) **HAPLOID Zellen**
- Prerequisite der Befruchtung (zB. *Kapacitation von Spermien*)
- Endokrine „Vorbereitung“
- ZONA PELLUCIDA („*Dornröscheneffekt*“)
- Verkuppelung von Gameten
- Acrosomreaktion
- Befruchtung (*nur ein Spermium kann gewinnen*)
- Zahl und Stelle von den Polkörperchen
- Nur väterliche Kromatin und Zentriol eindringt in die Oozyt
- **Nur EINE DIPLOIDE ZELLE ist gebaut nach der Fusion der Gameten**
- FURCHUNG = serielle mitotische Zellteilung (1 – 2 – 4 – 8 – 16 **MORULA**)
- Und dann kommt die DIFFERENZIERUNG

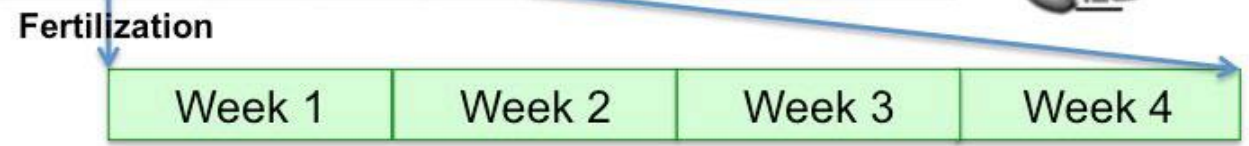
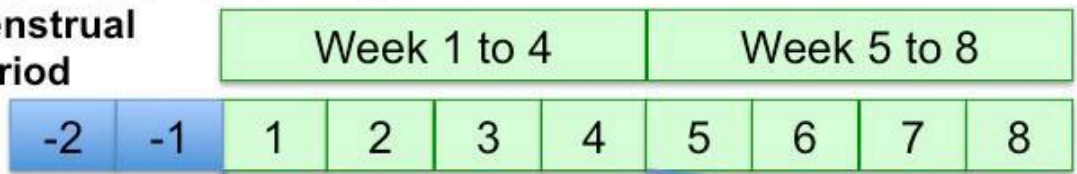
# ERSTE WOCHE



# Human Development Timeline



**Last Fertilization Positive Menstrual Period**



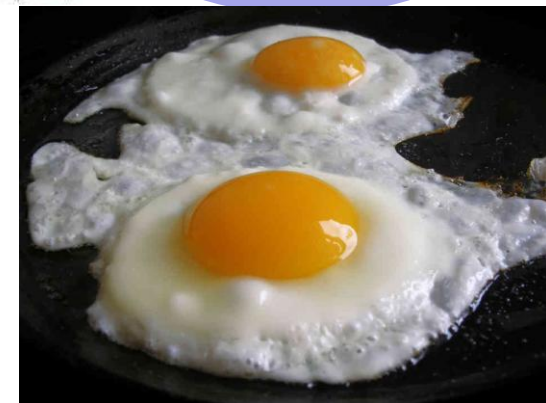
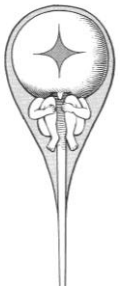
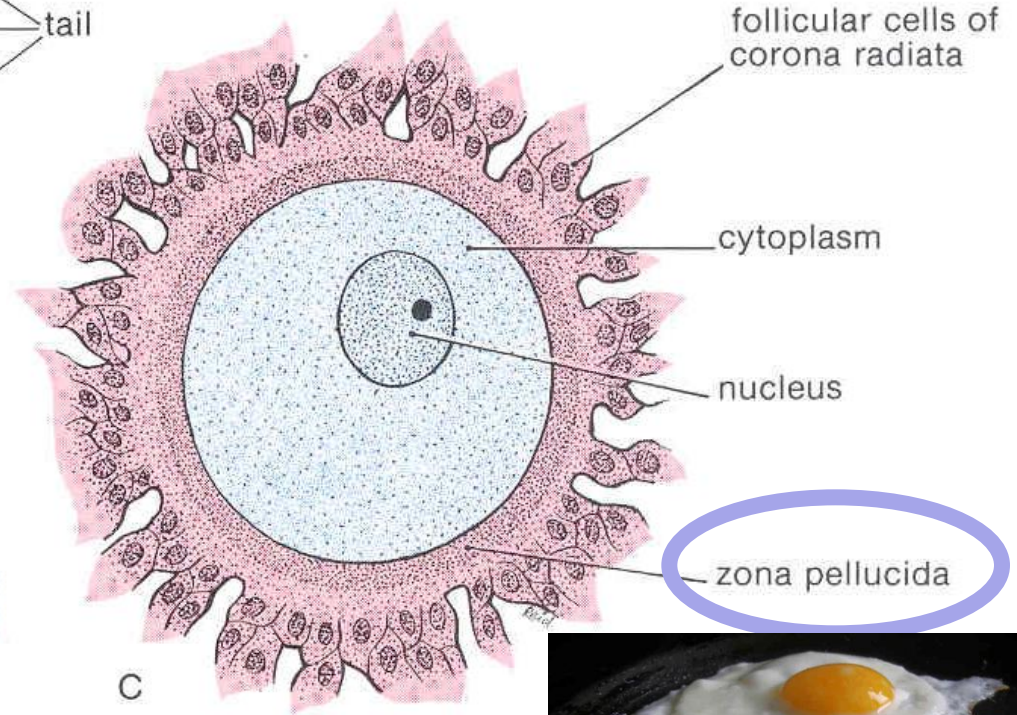
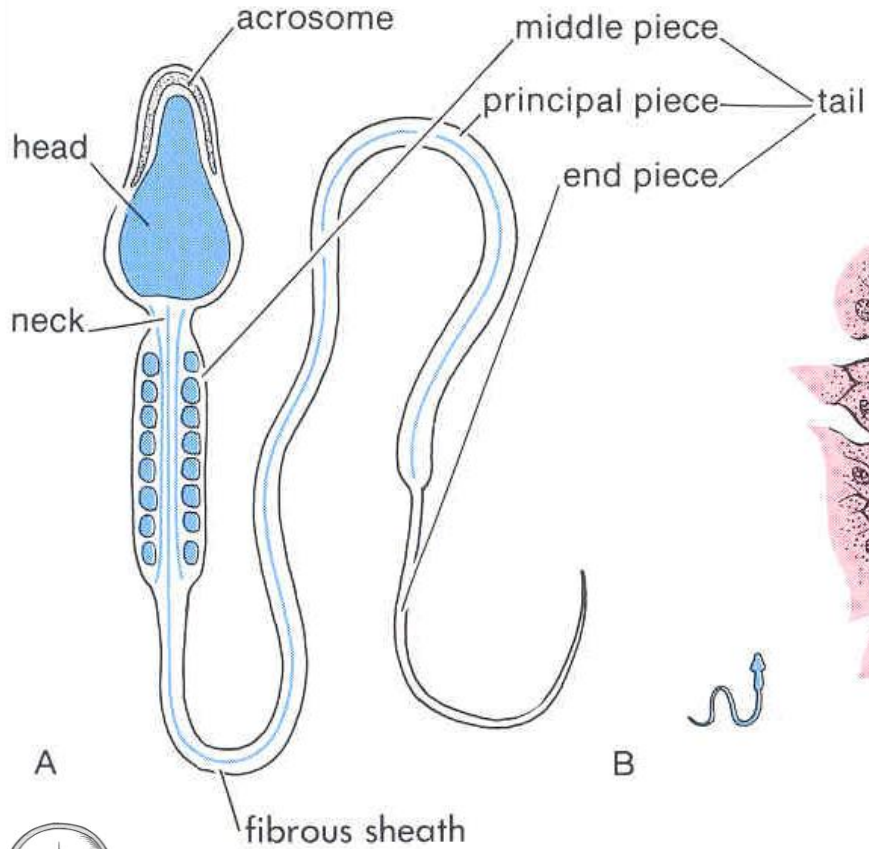
**Events**

- zygote morula
- blastocyst hatching
- implantation
- bilaminar
- trilaminar
- gastrulation
- folding
- somitogenesis
- cardiogenesis
- neurogenesis
- placodes

# MENSCHLICHE GAMETEN

**SPERMIEN** oder *SPERMATOZOA*

*OVUM* oder **OOZYT**



***Ehemalige Idee von einem Spermium***

# GAMETOGENESE - MEIOTISCHE ZELLTEILUNG

- Stammzellen teilen sich die Gameten zu entwickeln
- Kromosomenzahl wird halbiert (haploide Zelle - 23 Kromosomen)

## Meiose I

- Spermatozyt and primäre Oozyt DNA-Replikation (**Duplication**)
- homologe Kromosome synaptisieren
- Die Paaren separieren sich (haploide Tochterzellen)

## Meiose II

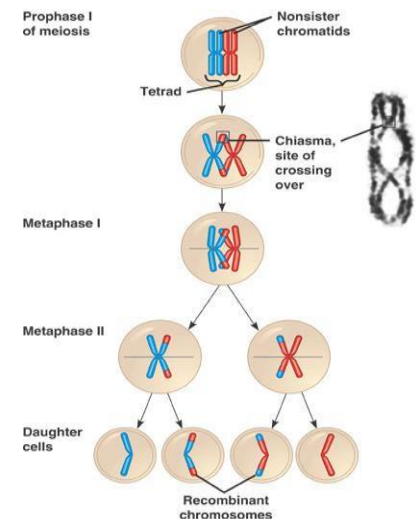
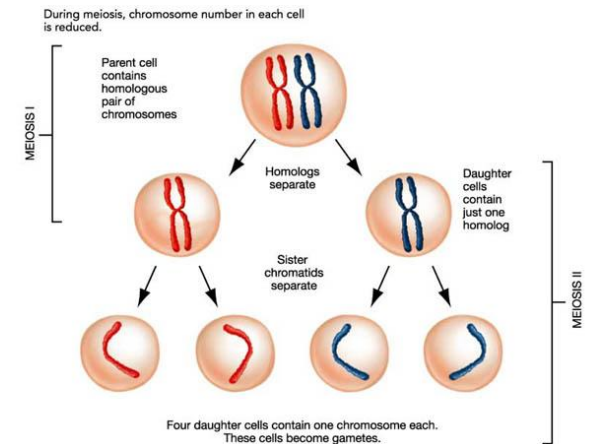
- Schwesterkromatiden separieren sich (23 single chromosomes)

## „Crossing over“ (meiose I)

eine kreuzweise Überlagerung zweier Chromatiden mit nachfolgendem, gegenseitigem Austausch von Abschnitten (chiasma)

## Die genetische Variabilität wird erhöht

- Redistribution vom genetischen Material
- random Distribution von homologen Kromosomen in Tochterzellen



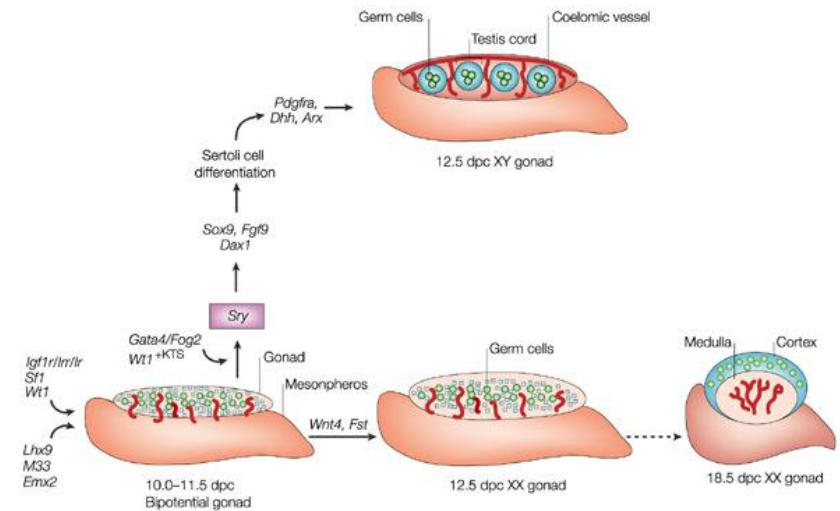
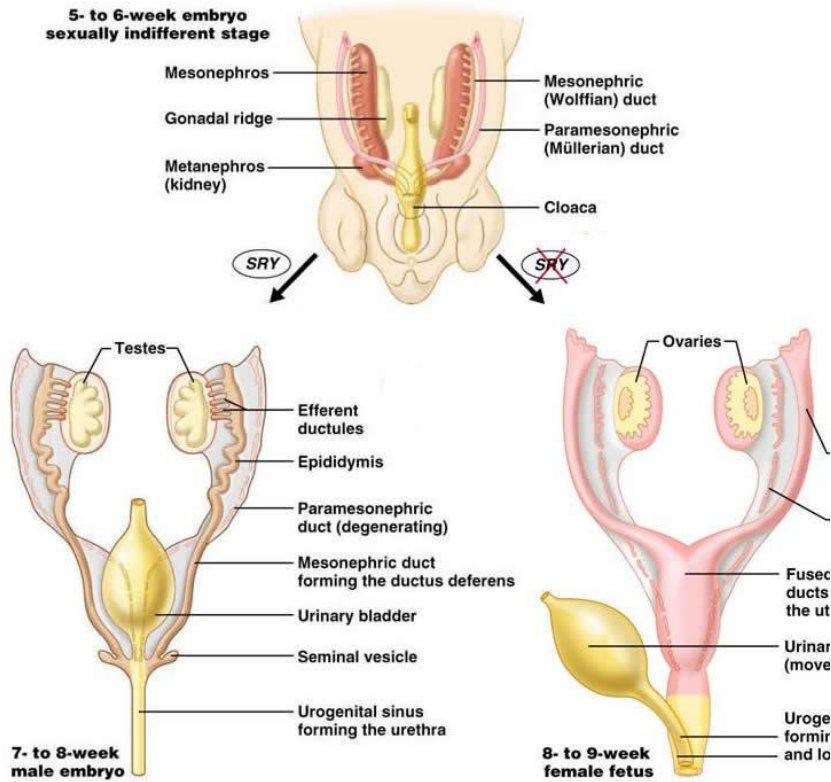
# GAMETENBILDUNG, GONADEN

**SRY**

**HODEN**

**OVAR**

Die Gonaden entstehen bei beiden Geschlechtern in der Genitalleiste wo die Urkeimzellen einwandern





# ENTWICKLUNGSSTADIEN

## SPERMATOGENESE

Der erste Abschnitt umfasst die Zellen von der Spermatogonien bis und mit zur sekundären Spermatozyte

### -- PRENATALE PHASE

Die Urkeimzellen wandern aus dem Dottersack aus und ein in den Gonadenanlage

### -- POSTNATALE PHASE

Anfang der Pubertät

- Die Spermatogonien untergehen seriellen mitotische Zellteilung
- Vergrößerung – *primären Spermatozyten*
- erste meiotische Zellteilung – *sekundären Spermatozyten*
- zweite meiotische Zellteilung – *Spermatiden*

*SPAGHETTI*

*MACARONI*

## SPERMIOGENESE

Reifung der Spermatiden (Sertoli Zelle)

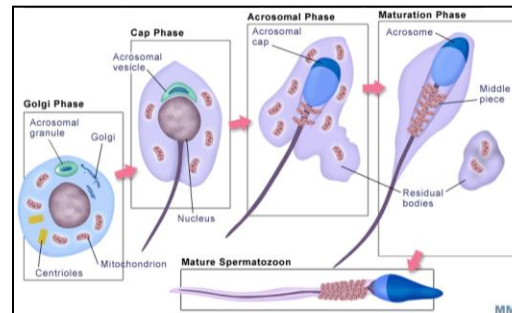
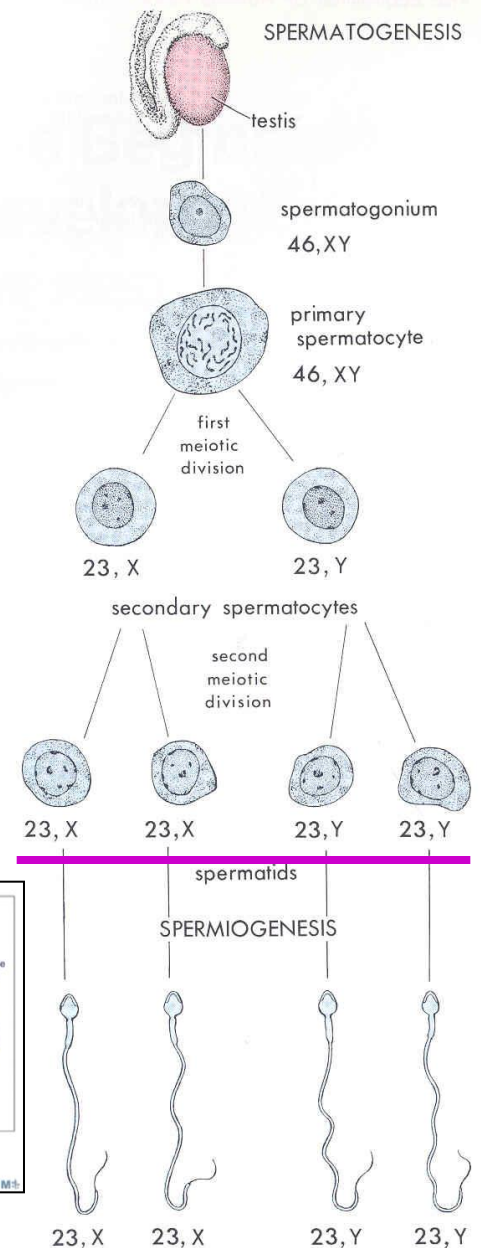
Bildung des *SPERMIIUM*

cca. 70 Tage

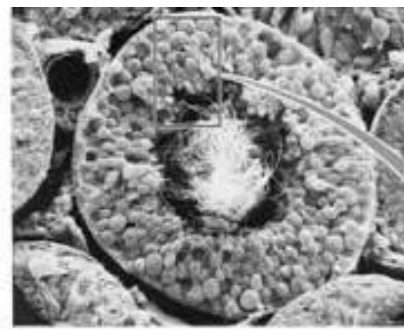
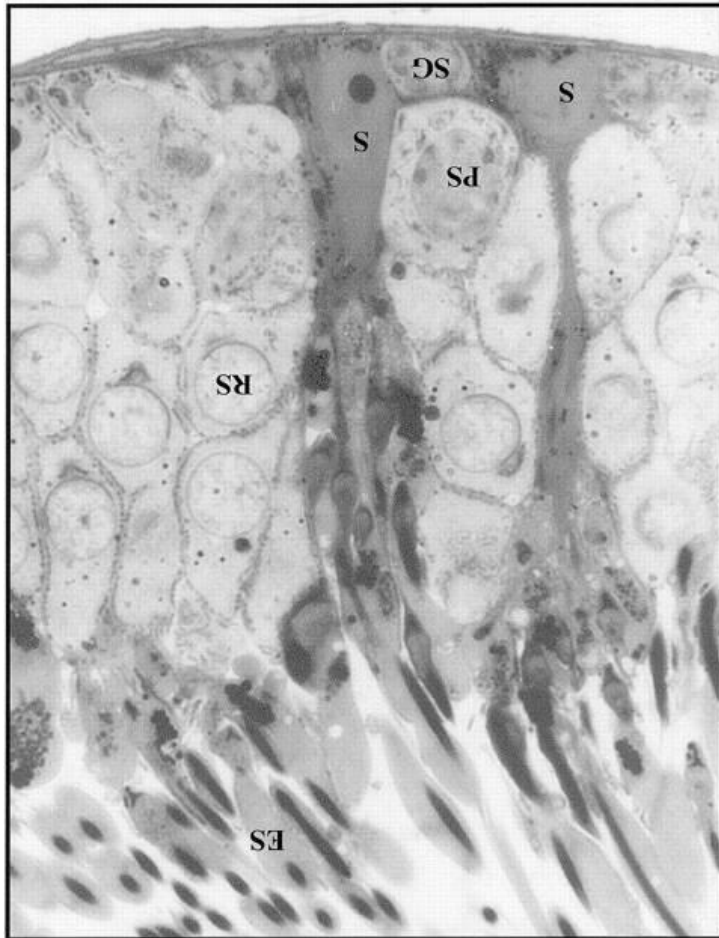
(4 Wochen Hoden - 6 Wochen Nebenhoden)

**Sertoli Zellen- FSH** Rezeptoren

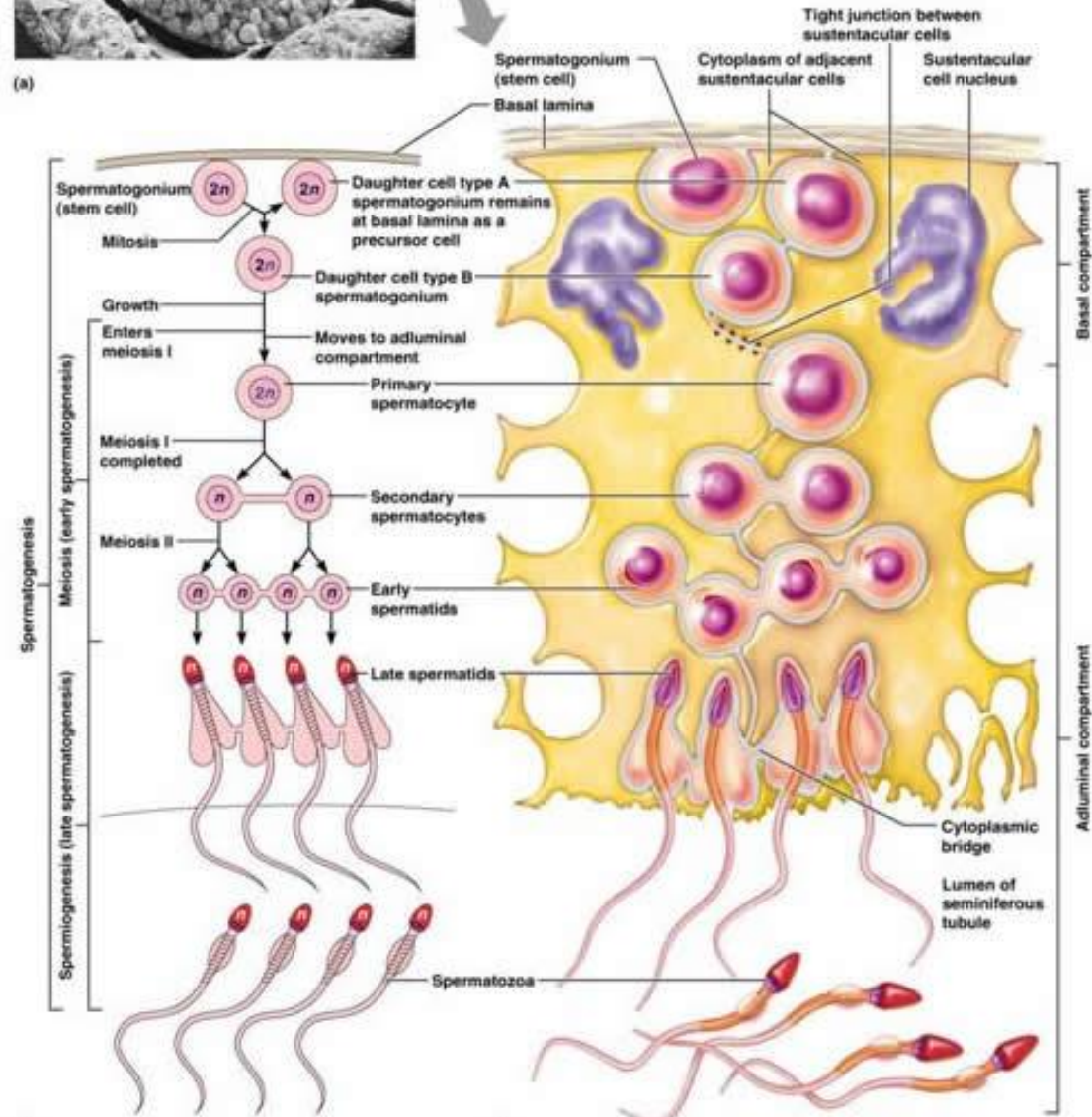
**Leydig Zellen- LH** Rezeptoren – **Testosteron Produktion**



# SPERMATO- UND SPERMIOGENESE

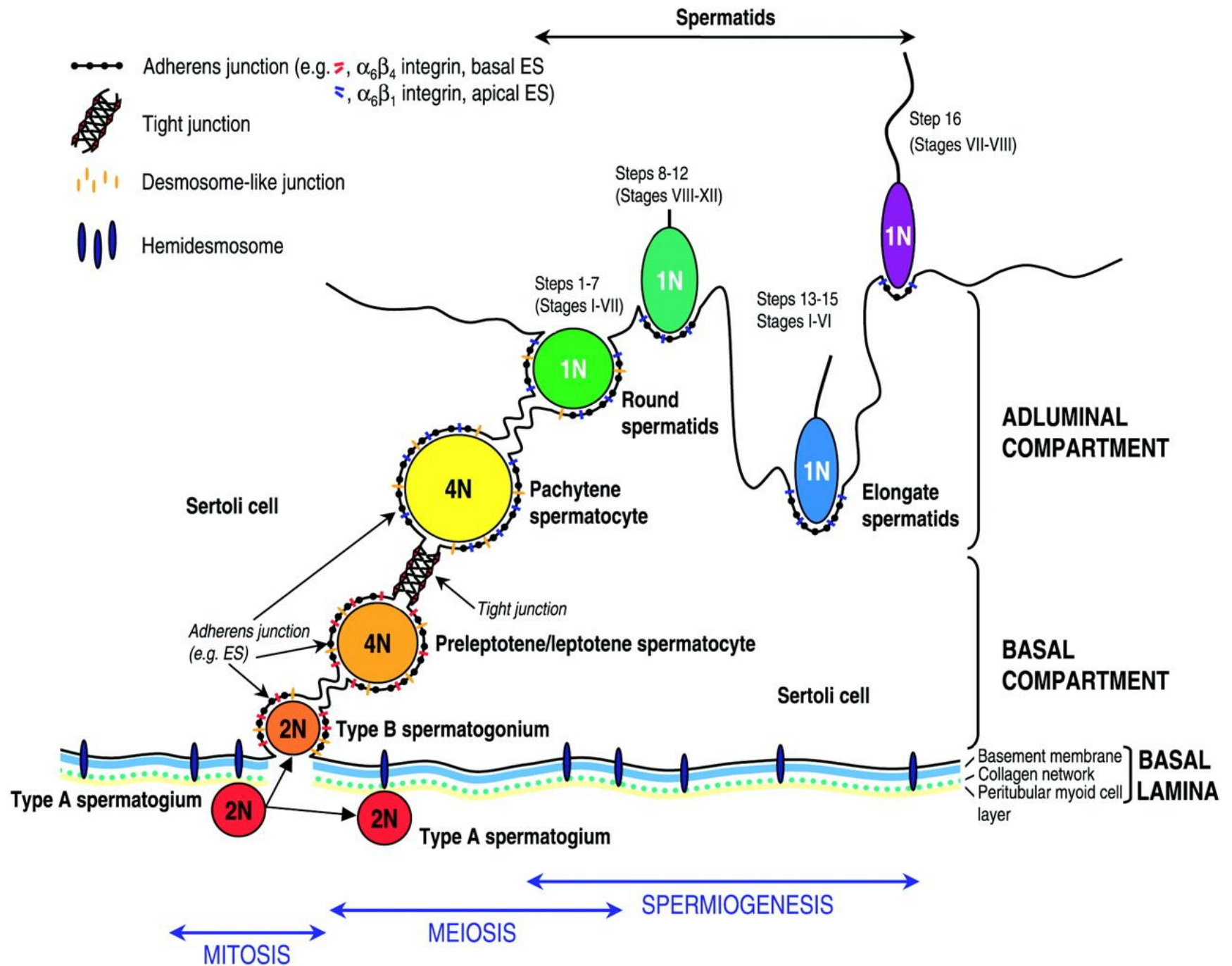


(a)



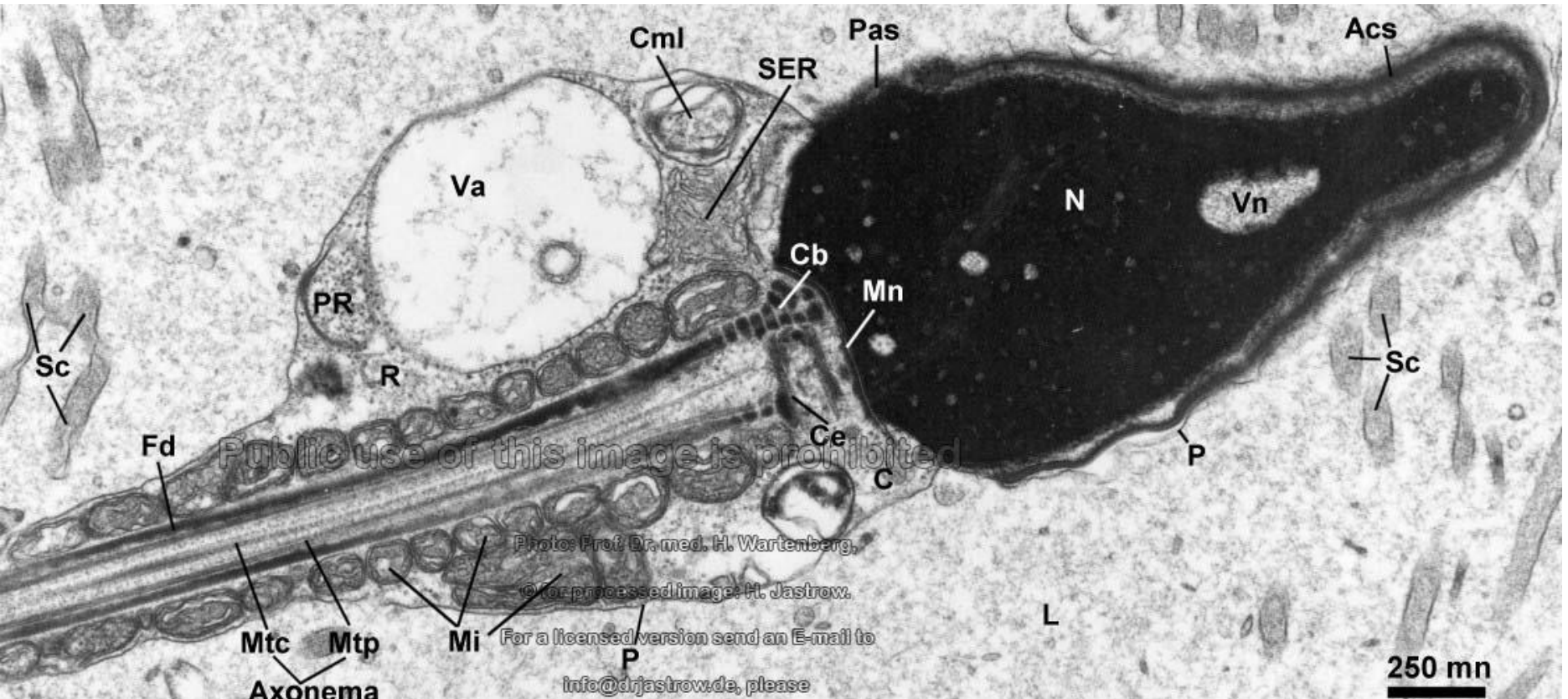
(b)

(c)



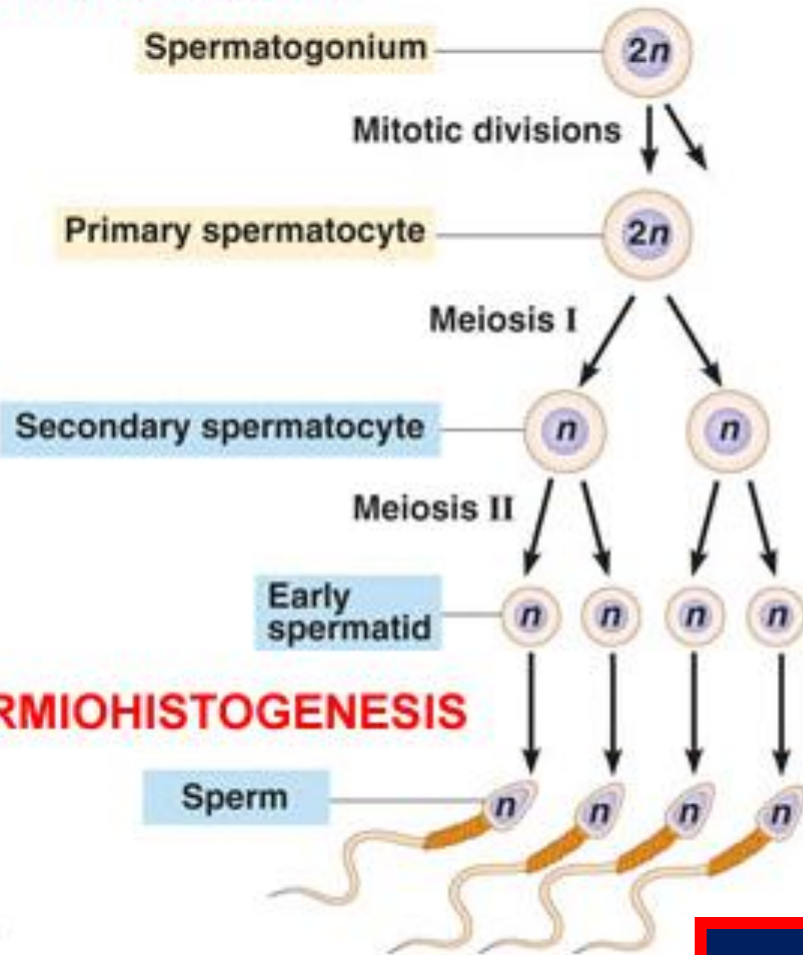
# SPERMIUM

## ELEKTRONMIKROSKOPISCHE ABBILDUNG



# ES GIBT EINE GRÜNDLICHE UNTERSCHIED ZW DEN ZAHL VON BILDENDEN KEIMZELLEN IN MANN UND FRAU

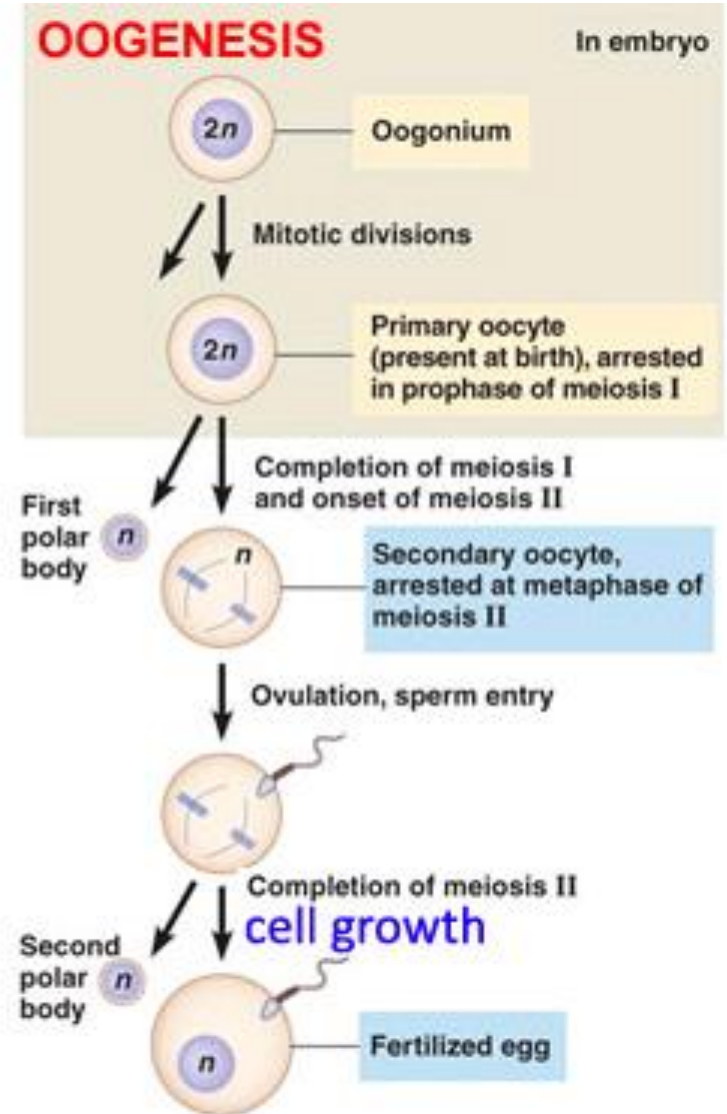
## SPERMATOGENESIS



## SPERMIOHISTOGENESIS

4 : 1

## OOGENESIS



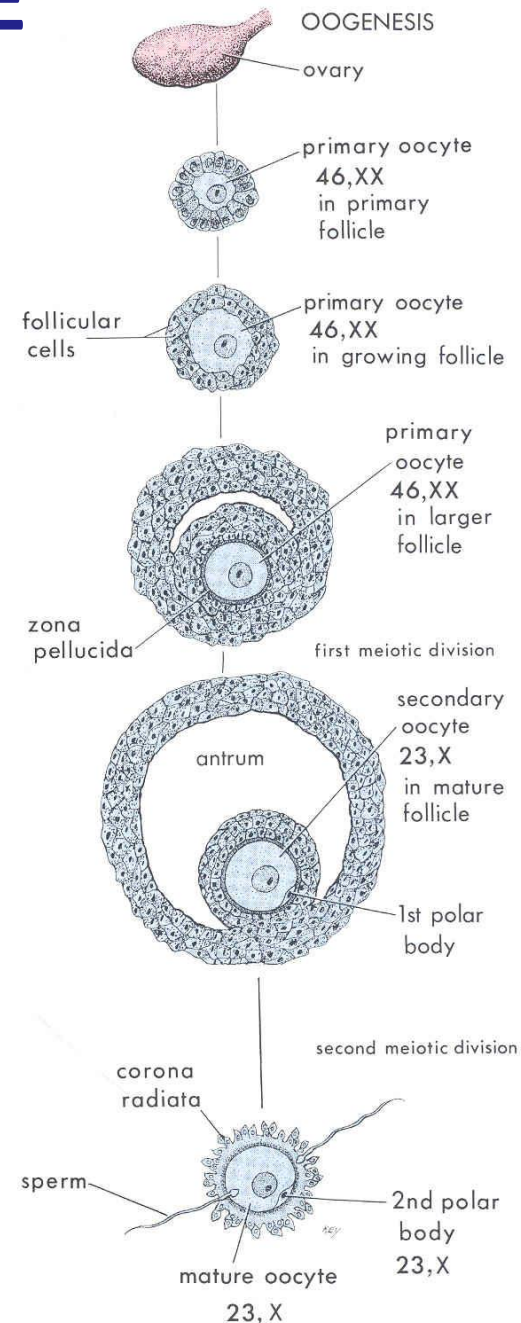
# STADIEN DER OOGENESE

## PRENATALE PHASE

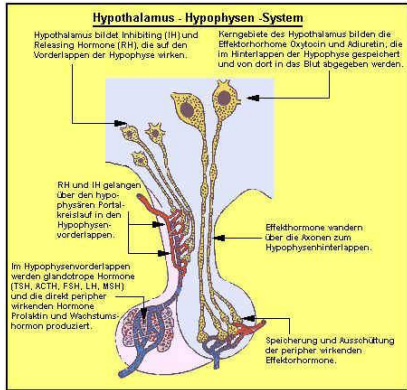
- serielle mitotische Zellteilungen (*Urkeimzellen*)
- Vergrößerung (*primäre Oocyte in einem Primordialfollikel*)
- erste meiotische Teilung bleibt in der Prophase aufgehalten

## POSTNATALE PHASE

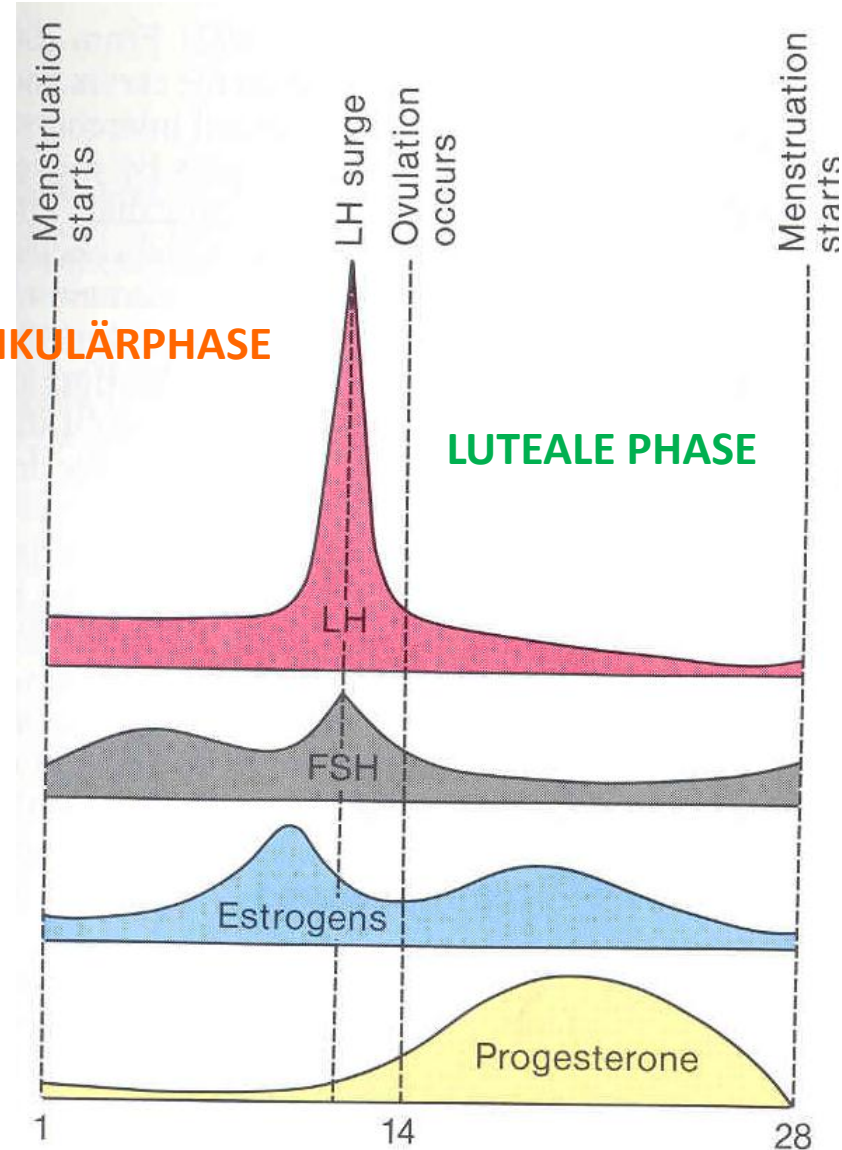
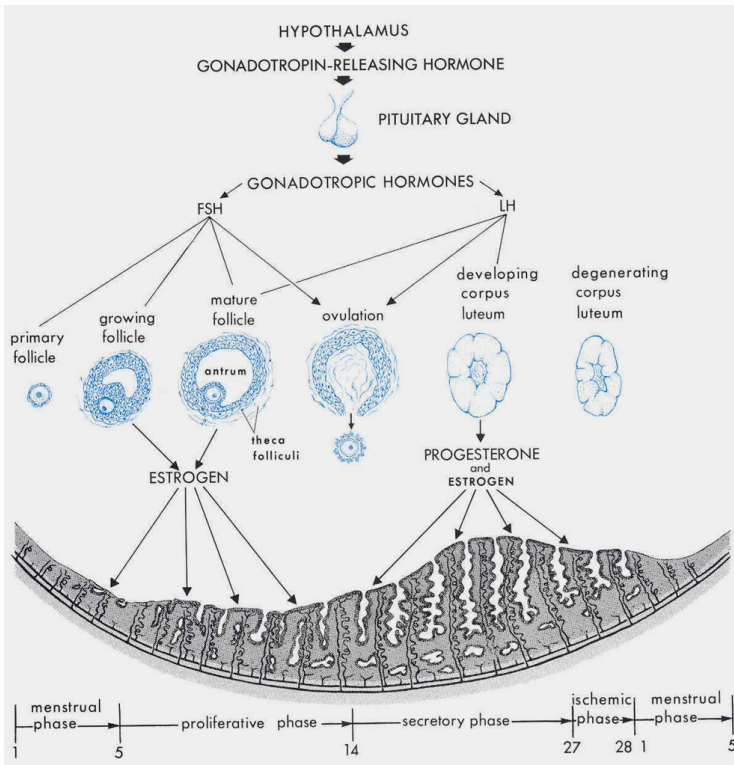
- In der Pubertät geht die Oozytenreifung weiter (*primären Oocyten in primären, dann sekundären Follikeln*)
- Beendet die erste Reifeteilung (meiose)
- Bildung des ersten Polkörpers** (untergeht)
- (*sekundären Oocyten in tertiären - GRAAFsche Follikeln*)
- OVULATION** – zweite Reifeteilung (meiose) ist aufgehalten  
in der *Prophase*
- FERTILIZATION** - die Spermien penetrieren die Zona pellucida
- Beendet die zweite Reifeteilung (meiose)
- Bildung des zweiten Polkörpers** (untergeht)



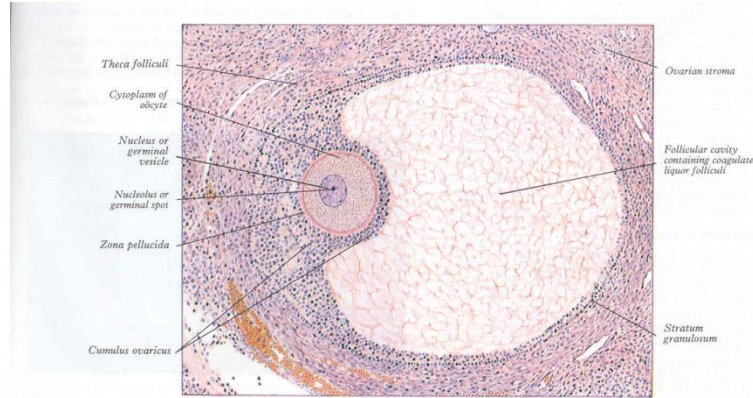
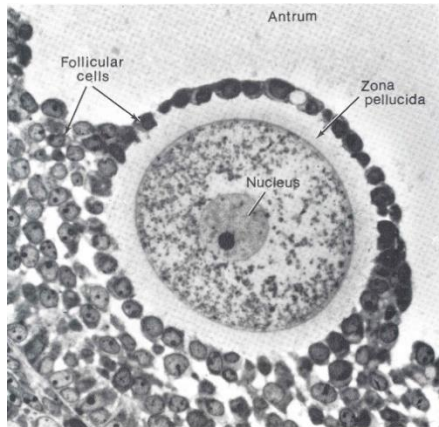
# DER MENSTRUATIONSZYKLUS



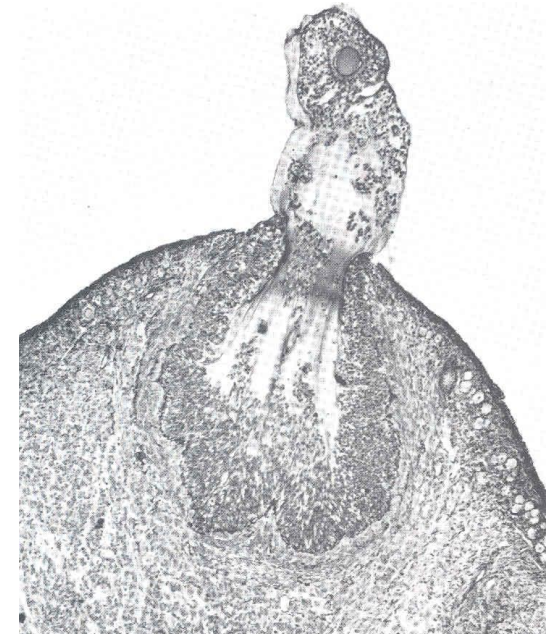
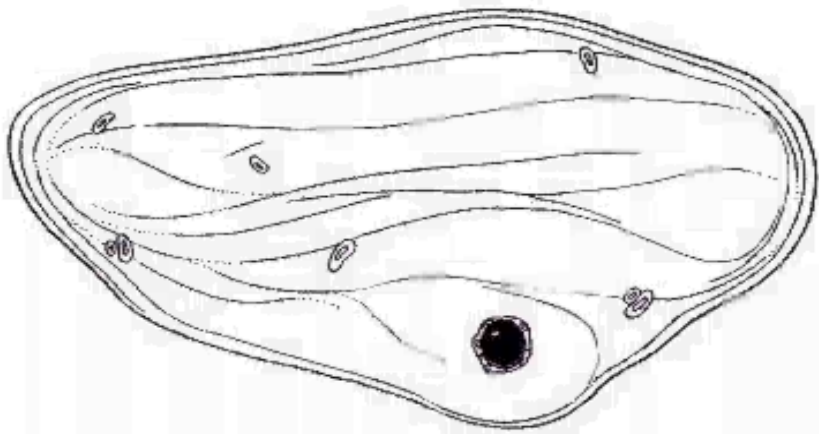
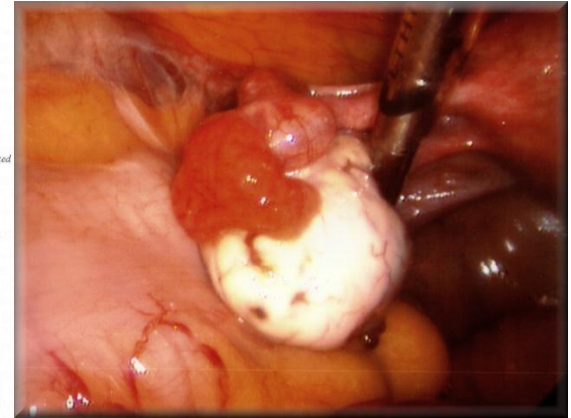
## FOLLIKULÄRPHASE



# DIE EIERSPRUNG - OVULATION



3.20 Ovarian follicle from a woman aged 28 years. Haematoxylin and eosin. Magnification  $\times c. 90$ .



**Etwa 12-16 Stunden ab jetzt**



# BEFRUCHTUNG

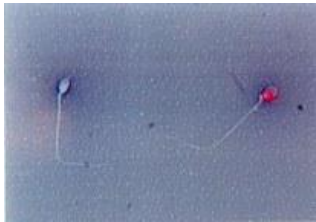
## EJAKULAT (3.5 ml)

10% Spermien (200-600 M/ml)

50% Drüsensekret (*coagulation*)

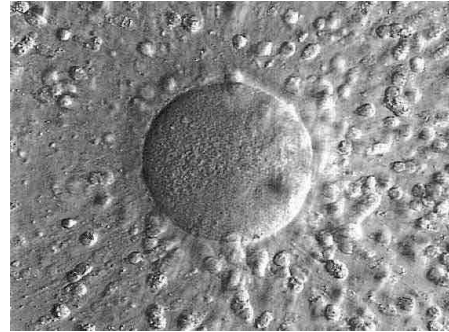
30% Prostatasekret (*fructose*)

10% Cowper's Drüsensekret (*spülen, lubrication*)



LIVE DEAD

## REIFE OOZYTE



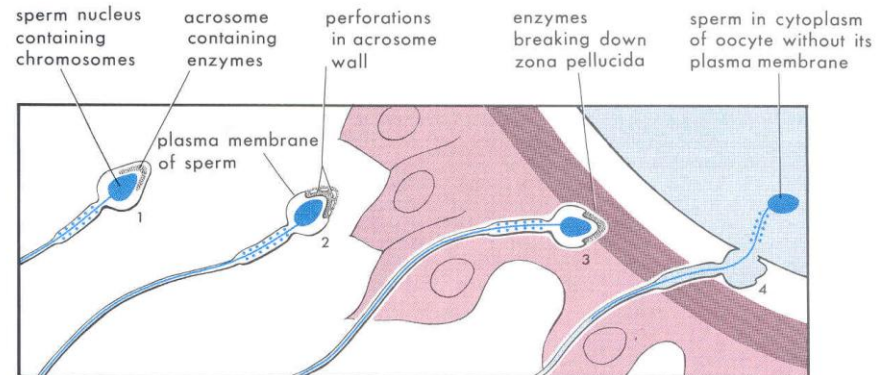
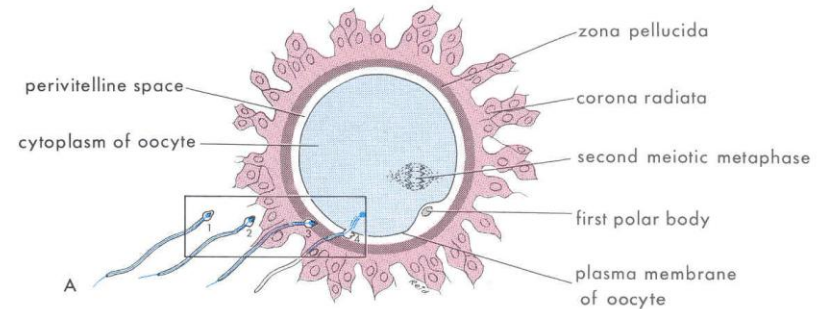
## UNREIFE OOZYTE



**FERTILIZATION** bedeutet dass ein Spermium sich durch die Membrana vitellina von einer Oozyte durchbohrt. Es dauert nicht länger als 24 Stunden

- Überleben von Spermien : bis **5 Tage** in dem **FERTILEN Zervikalschleim**

- nur 1% (3 Mio) Samenzellen treten in den Uterus ein, dann noch weniger erreichen die Tuba (cca ½ Stunde)



**1 Oozyt gegen 300 Mio Spermien**

# FERTILIZATION



## **STADIEN DER BEFRUCHTUNG**

**Kapazitation** (dauert etwa 7 Stunden, die Acrosoma wird denudiert )

**Acrosomreaktion** (lytische Enzyme öffnen die Corona radiata)

**Bindung** – Spezifische Bindung zw Eizelle und Samenzelle

**Penetration** - Zona pellucida und Membrana vitellina werden durchbohrt  
(dauert cca 20 Minuten) enzymatische Reaktion

**Zonareaktion** (die Membrana vitellina entfernt sich von der Zona pellucida usw)

Innerhalb 11 Stunden entwickelt sich das zweite Polkörper

## **Preembryo Bildung**

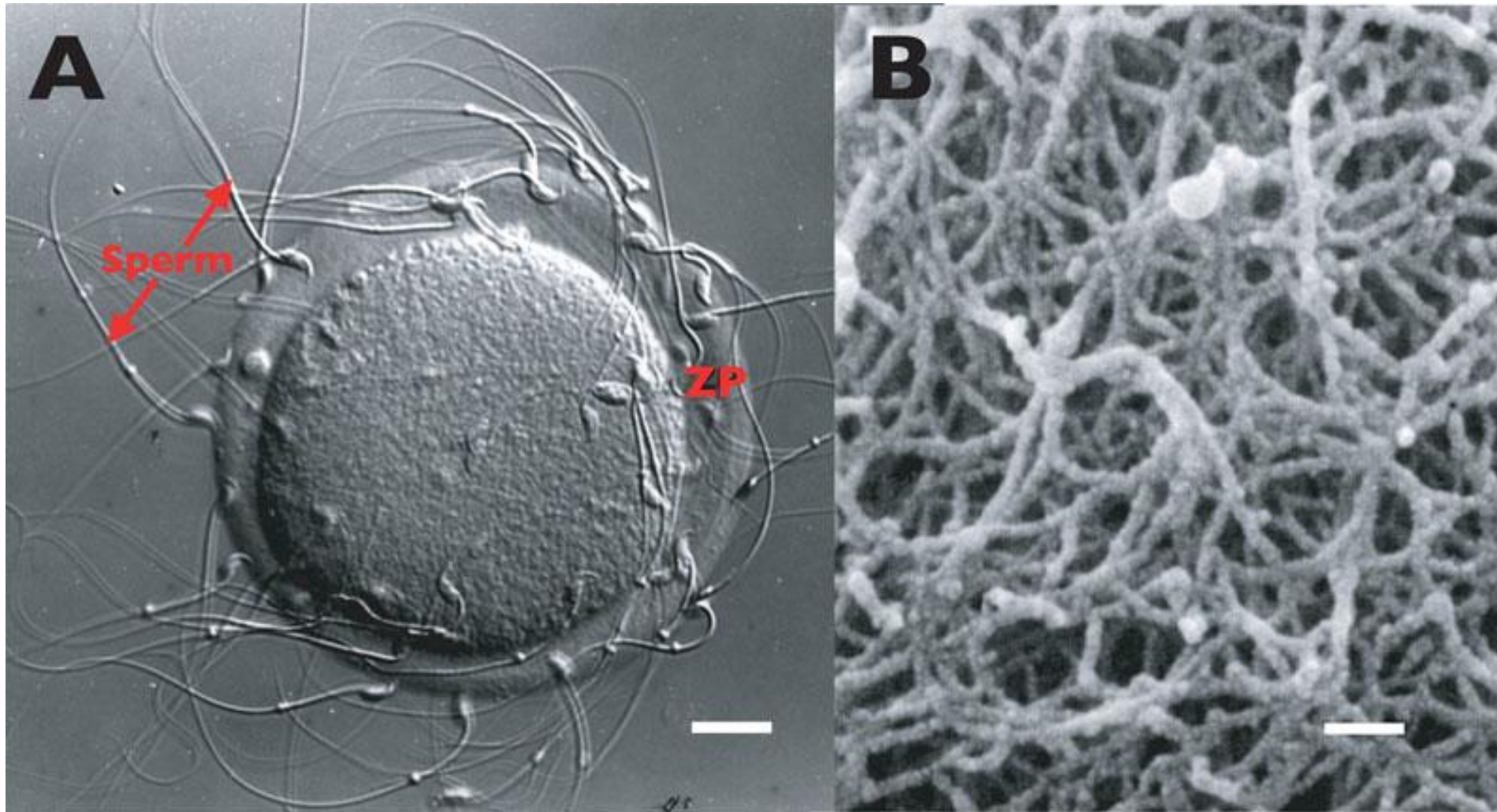
- zwei Vorkerne Verschmelzen
- eine **DIPLOIDE** Zelle entsteht



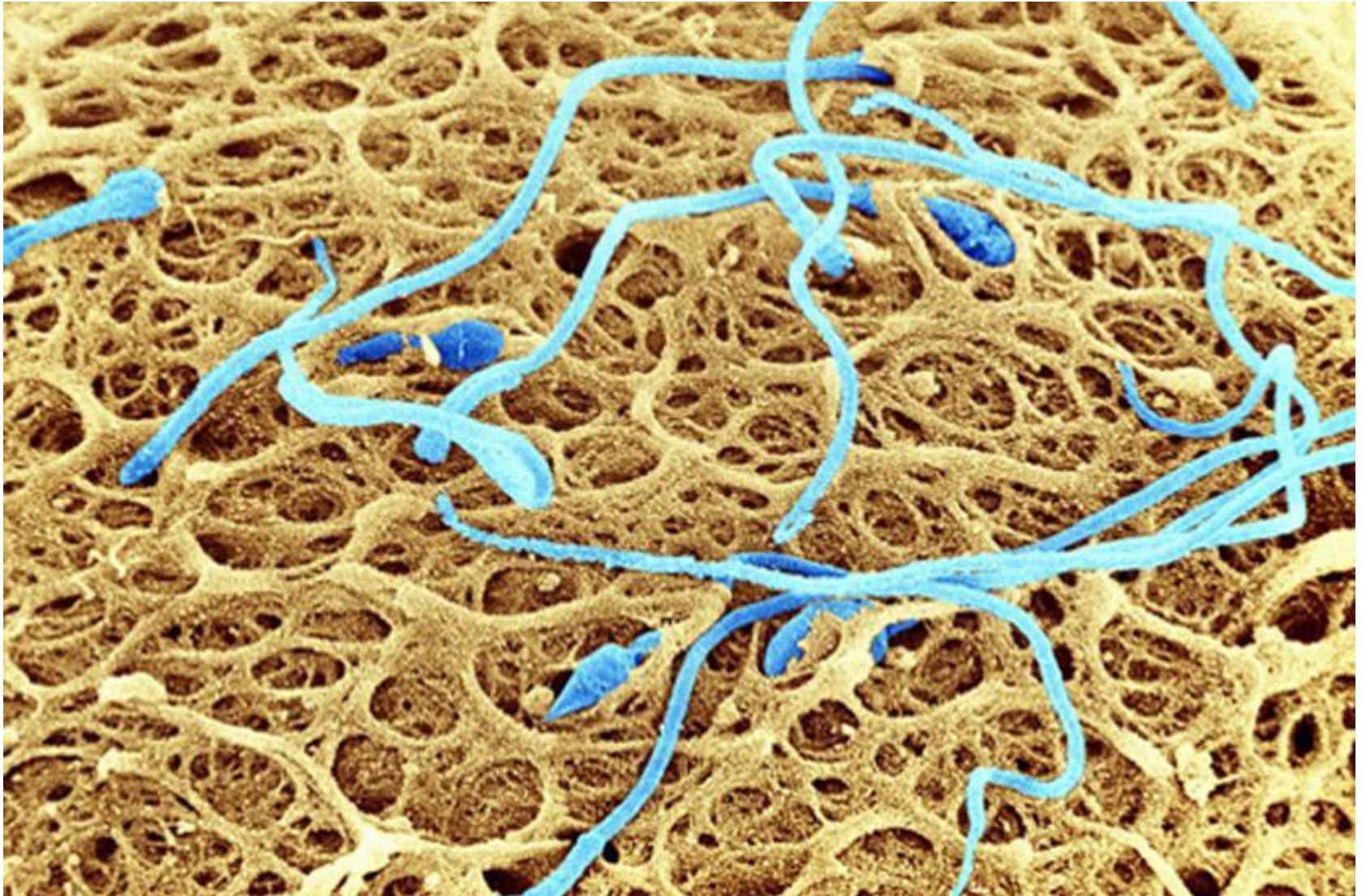
dann  
**ZYGOTE**



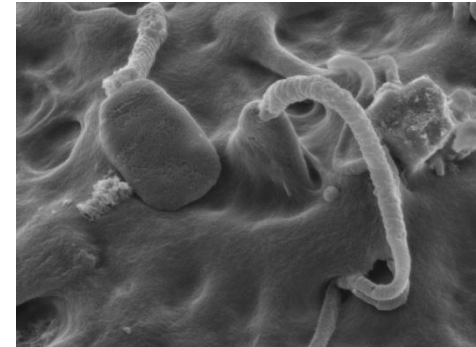
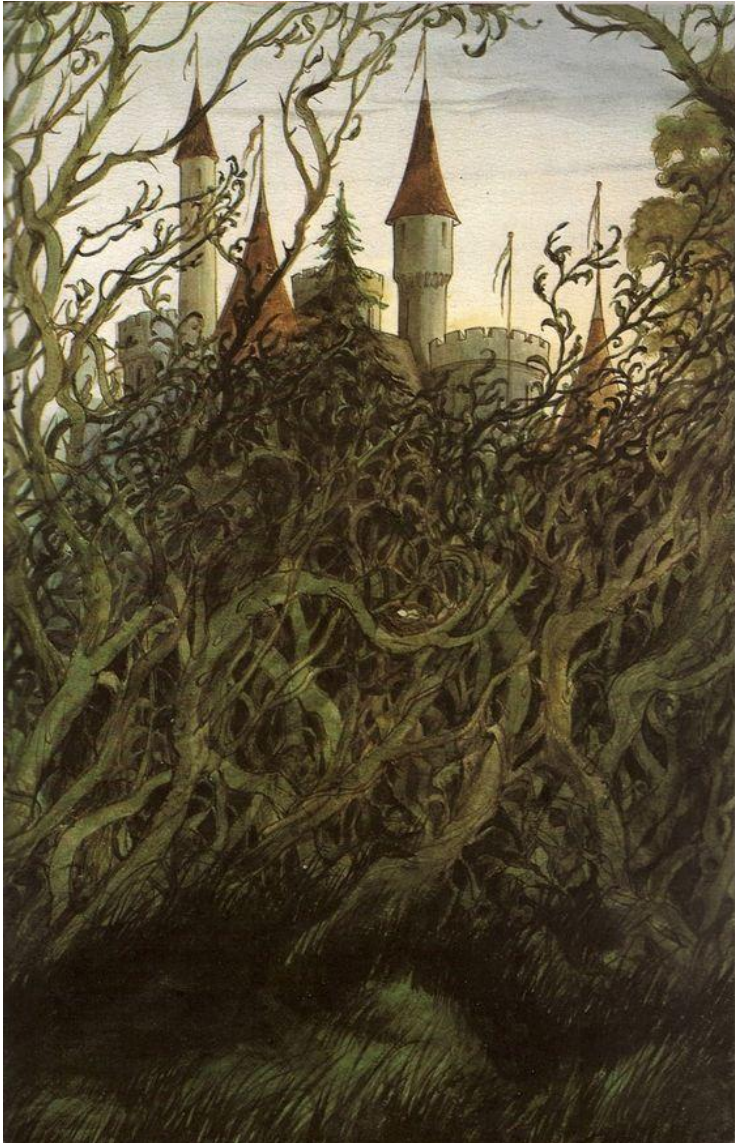
# WAS IST DIE ZONA PELLUCIDA?



# DIE ZONA PELLUCIDA IST VERANTWORTLICH FÜR POLYSPERMIENBLOCK



# „DORNRÖSCHEN - EFFEKT“



# ZONA PELLUCIDA

Oder **GLASHAUT** - es ist eine **17 µm dick Glykoproteinennetzwerk** welche die Membran der Eizelle umfasst.

- erstmal erscheint bei der primären Oozyte (Primärfollikel)
- Die Eizelle und die Follikulärzellen sezernieren die ZP (EZM)

## *Scanning EM*

- feiner Netzwerk von dünnen Fasern

***Steht bei der Ovulation eine Korelation zw Porosität und Reifung der Eizelle***

Die Proteine ZP2, ZP3 und ZP4 bilden dann lange Filament-Ketten, die vorwiegend durch ZP1 miteinander verbunden werden ("cross link").

***ZONA PELLUCIDA - Die primäre Bindung der Samenzelle an das Protein ZP3 leitet die Akrosomreaktion ein***

***ZP3*** *Species – spezifische Spermienbindung*

***ZP2*** *ablehnt die weiteren Samenzellen*

***ZP1*** *verbindet ZP3 mit ZP2*

# ELEKTRONMIKROSKOPIE DER AKROSOMREAKTION

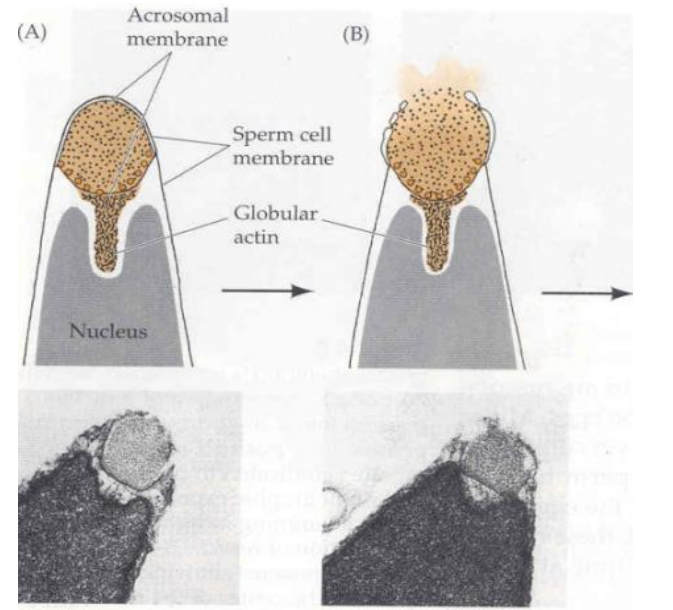
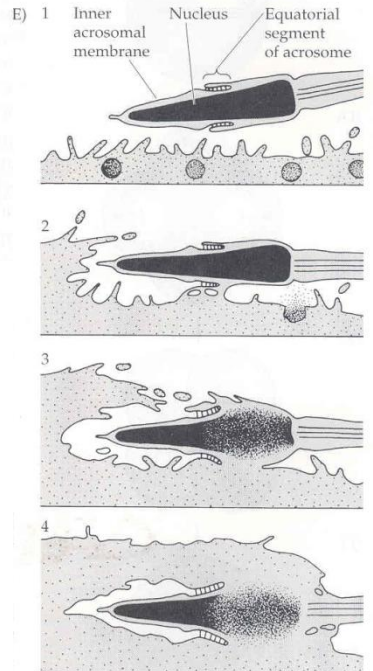
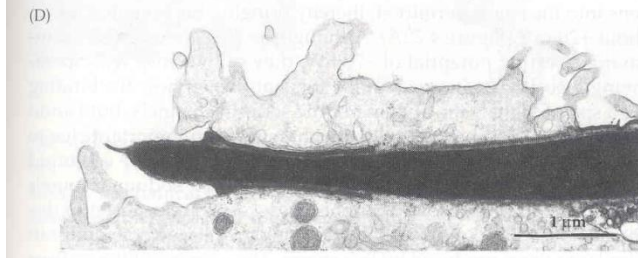
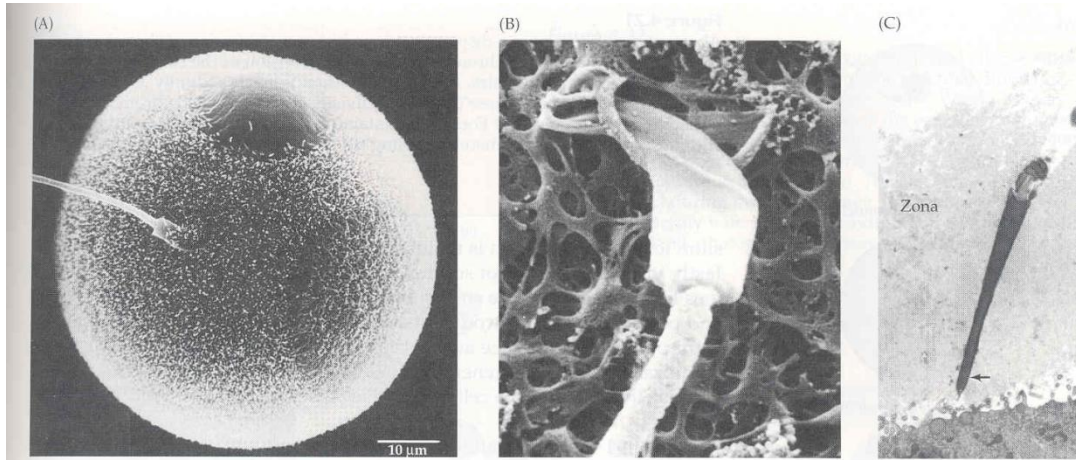
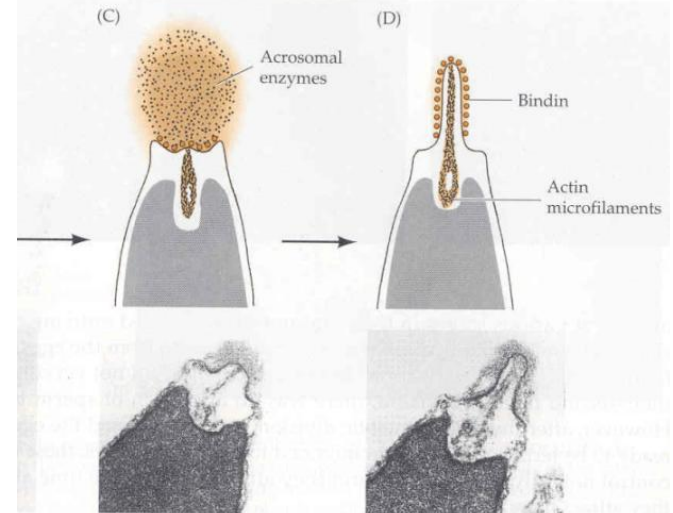


Figure 4.9



# BEFRUCHTUNG

## KAPAZITAZION

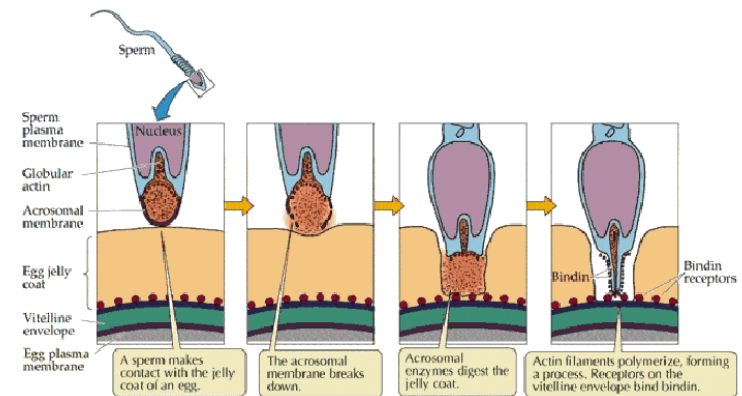
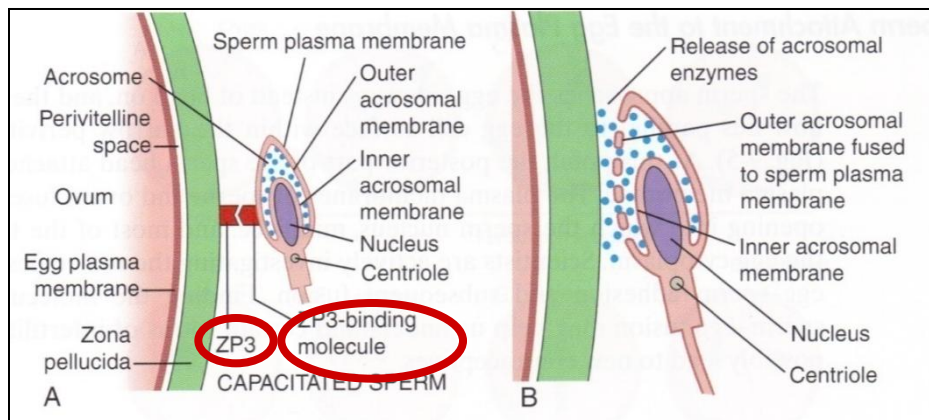
Die Kapazitation ist eine funktionelle Reifung des Spermatozoons. Die Veränderungen laufen über die Spermienzellmembran ab, bei der durch das Abtragen einer Glycoproteinschicht möglicherweise Rezeptoren freigegeben werden. Auch der Bereich der Akrosomal-Kappe wird dadurch so verändert, dass die Akrosomalreaktion möglich wird.

## CORONA (oder CUMULUS) -PENETRATION

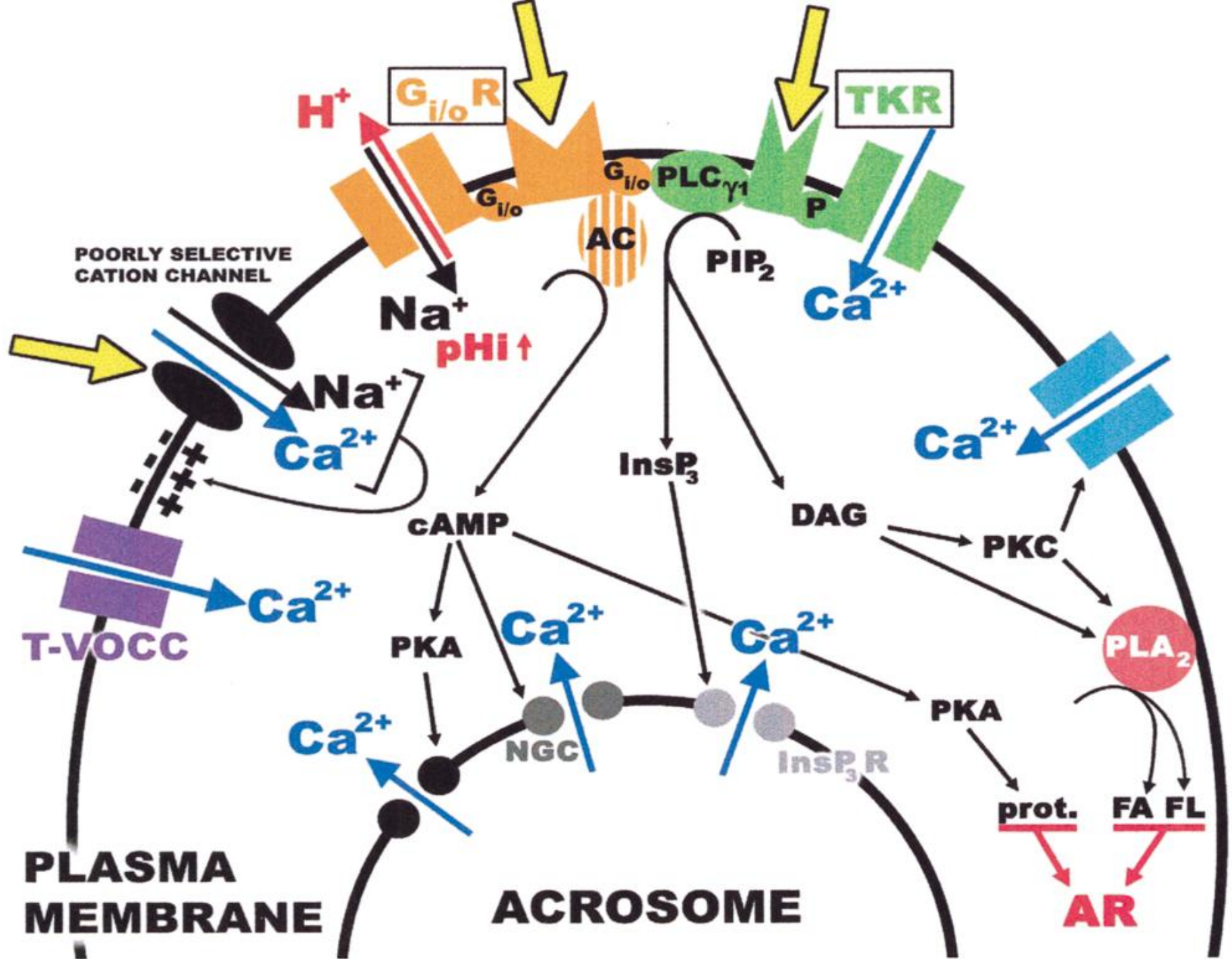
Die durch die Kapazitation erworbene Hyperaktivität des Spermatozoons ist ein entscheidender Faktor, der dazu beiträgt, dass sich das Spermatozoon durch den Kumuluszellhaufen treiben kann, am Anfang der Begegnung sogar ohne grosse Mitbeteiligung der Hyaluronidase. (**Hyaluronidase** und **CPE** helfen dabei)

## ACROSOMREAKTION

Bei der Akrosomalreaktion wird der Inhalt des Akrosoms nach aussen freigesetzt. Es verschmilzt die Zellmembran des Spermatozoons mit der darunterliegenden äusseren Membran des Akrosoms. Durch die entstehenden "Poren" gelangt der Inhalt des Akrosoms (lytische Enzyme) nach aussen.





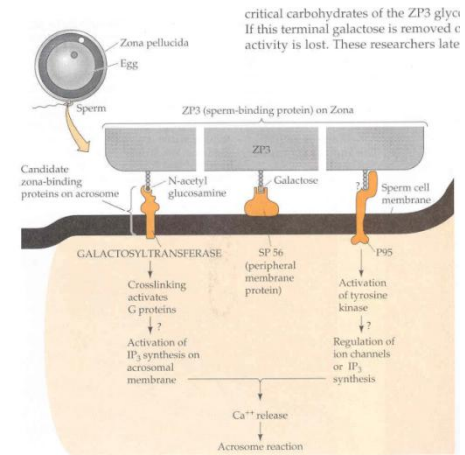
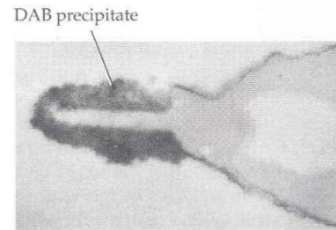
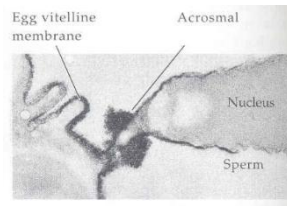
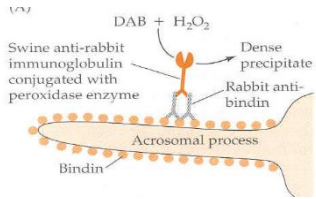


# BEFRUCHTUNG

## BINDUNG

Die Samenzelle durchtritt durch die Zona pellucida, der Acrosomvorsatz bindet sich zu die Membrana vitellina

Der **Andockmechanismus** des Spermatozoons an die Oozyte entspricht dem **Schlüssel-Schloss Prinzip**



## FUSION und ZONAREAKTION

**FERTILIN** in der Spermienmembran verschmelzt mit den **INTEGRINE** der Membrana vitellina

– väterlicher **Zentriol** tritt in die Oozyte ein (**sorgt for die weitere Zellteilung**)

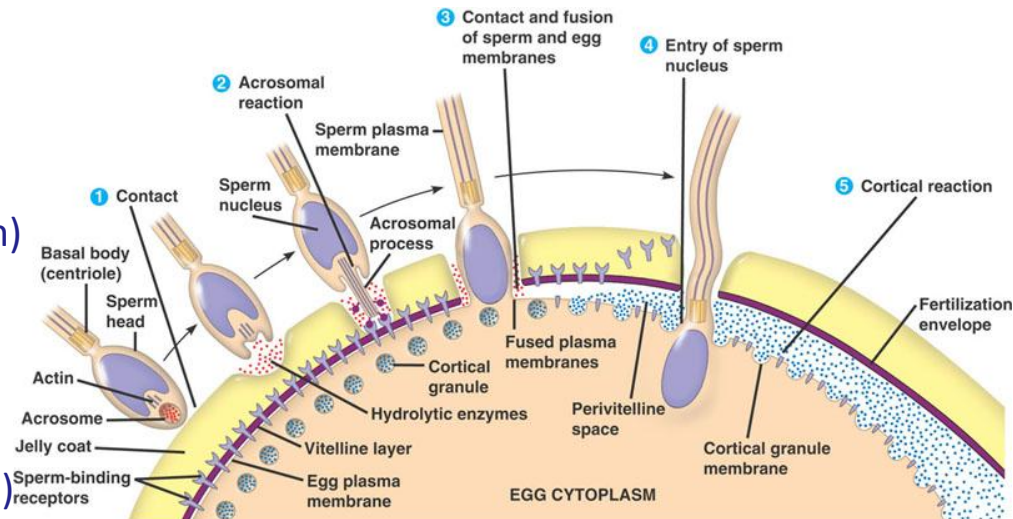
**Mitochondrien** dringen auch ein, aber werden sorgfältig **sequestriert** (phagosoma)

**Exocytose** - CG (Kortikalgranula)  
(verhindert dass die weitere Spermien andocken)

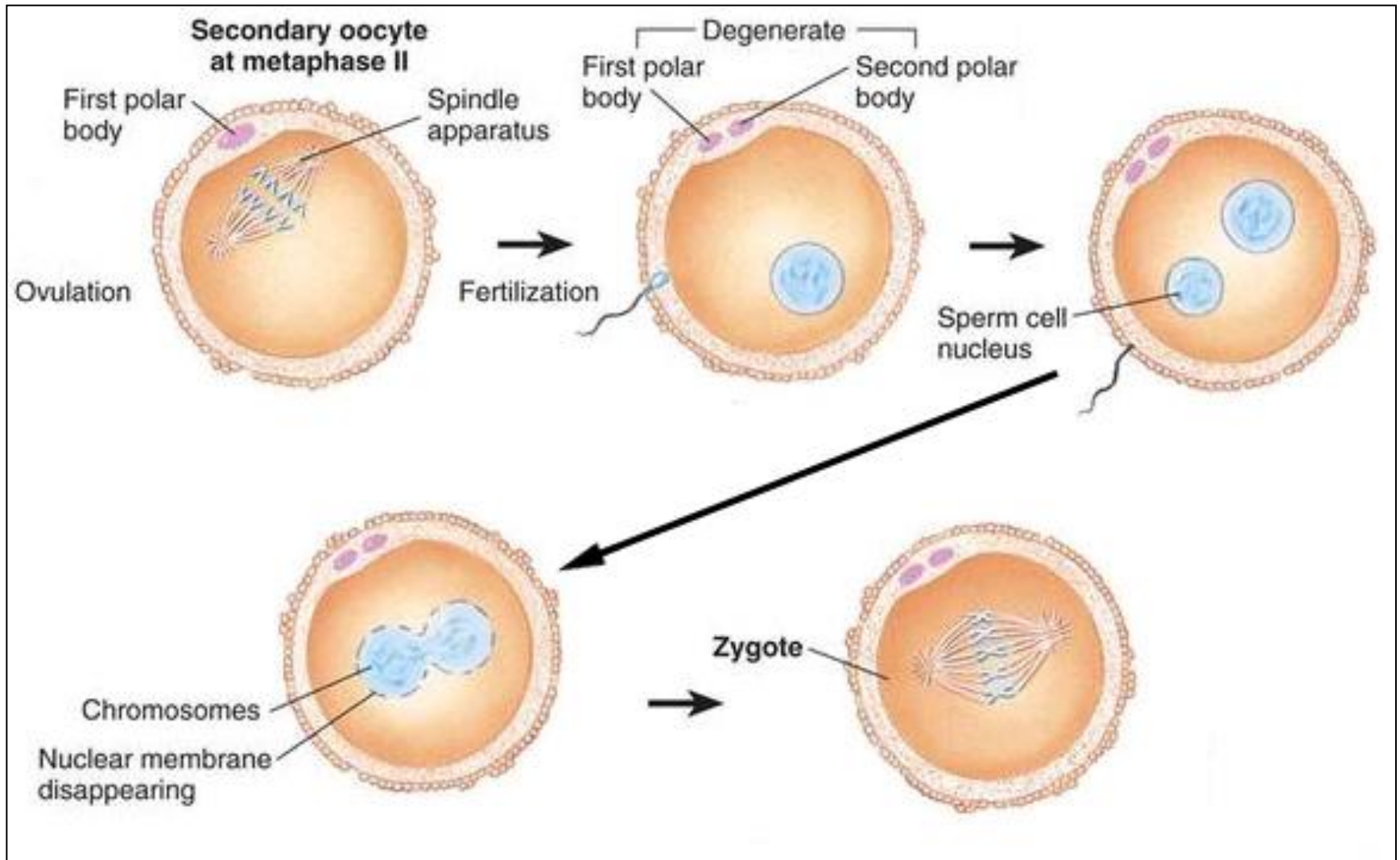
**Osmotische Druck steigt**

Die Perivitellinraum ist mit Flüssigkeit gefüllt

Vorbereitungen auf molekularer Ebene in der Oozyte zur **Entpackung der väterlichen DNS**)



# PREEMBRYO EMBRYO (ZYGOTE)



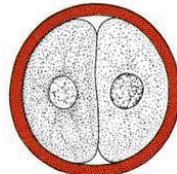
# FURCHUNG

In den **ersten 2 Tagen** das mütterliche Genom dirigiert

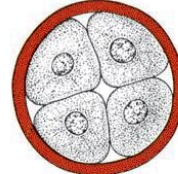
1,5 - 3 Tagen post-ovulation

Mitotische Zellteilung

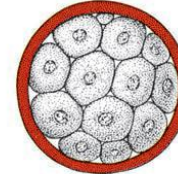
0.1 - 0.2 mm



Two-cell stage



Four-cell stage

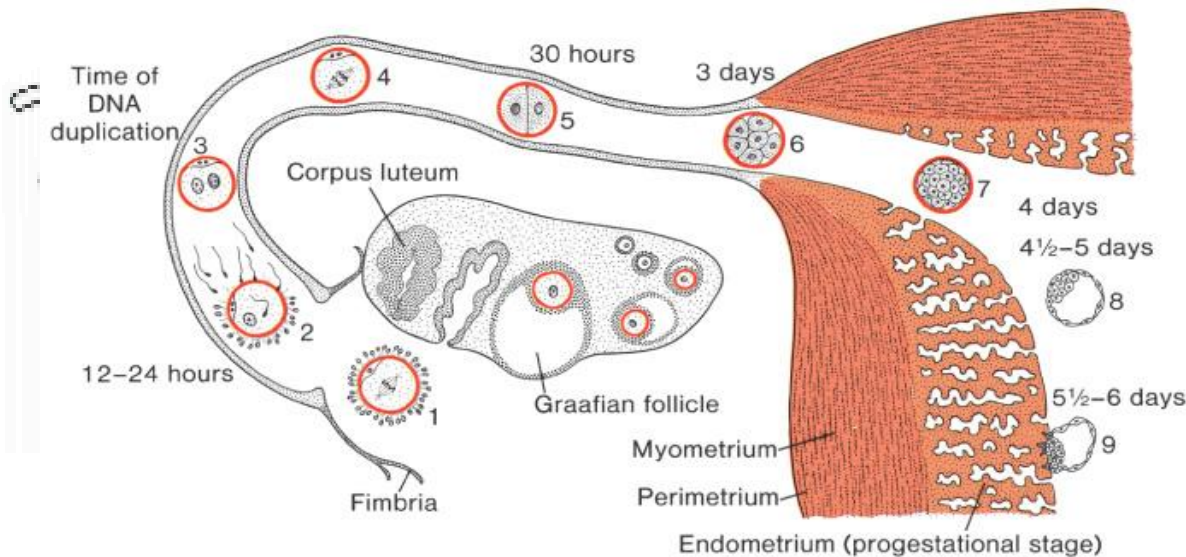
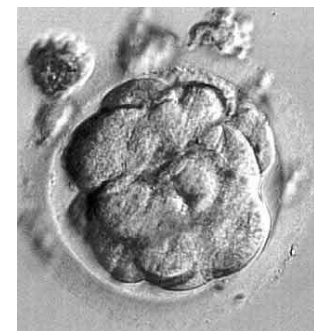
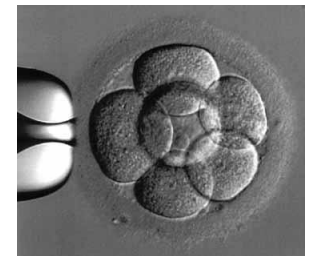
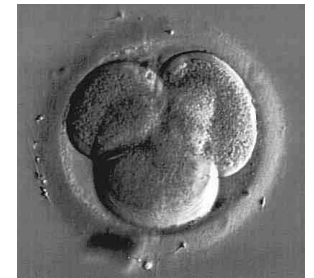


Morula



**ZYGOTE** – mitotische Zellteilung / 20 Stunden  
(*Blastomeren*)

**MORULA** – ab 16 Zellen, aber durch Kavitation wird zu  
Blastozyst und erreicht die Uterushöhle am Tag 3-4.

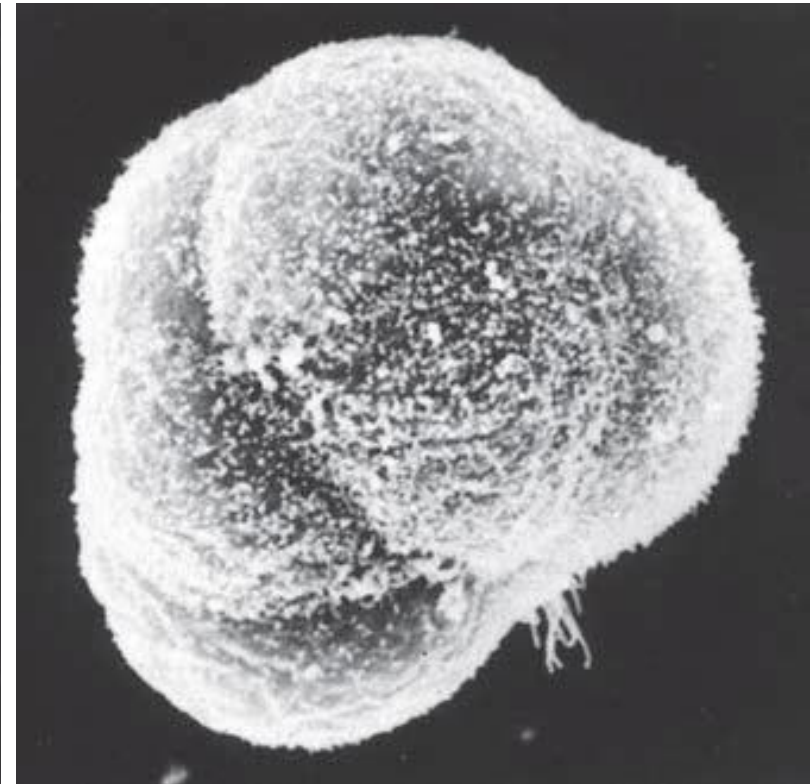


# MORULA

## COMPACTATIO

Vorher

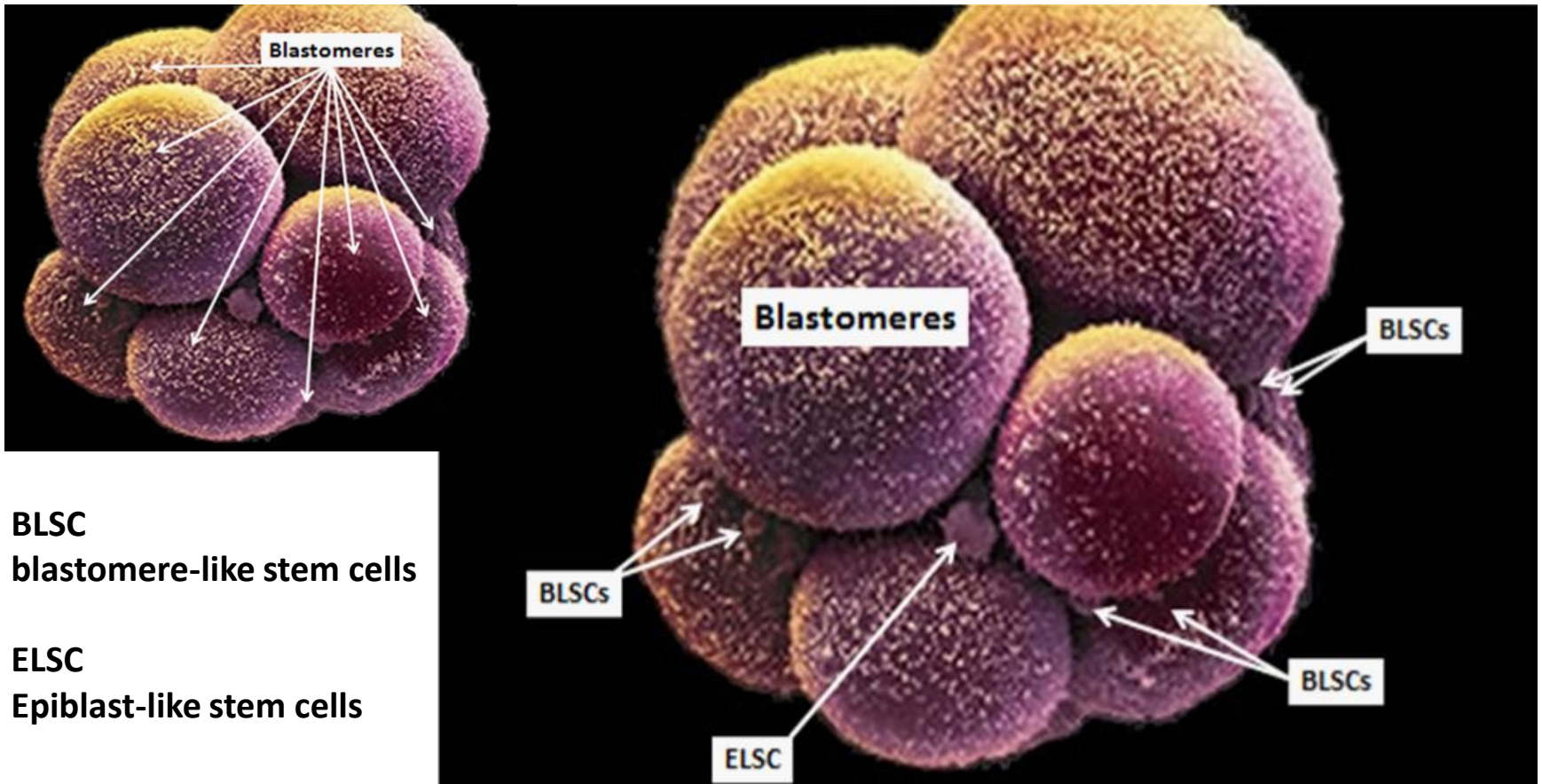
Nachher



Anzahl von Zellen: 60-120

<https://www.youtube.com/watch?v=Ylcb-xOuRLI>

# DIFFERENZIERUNG, STAMMZELLEN



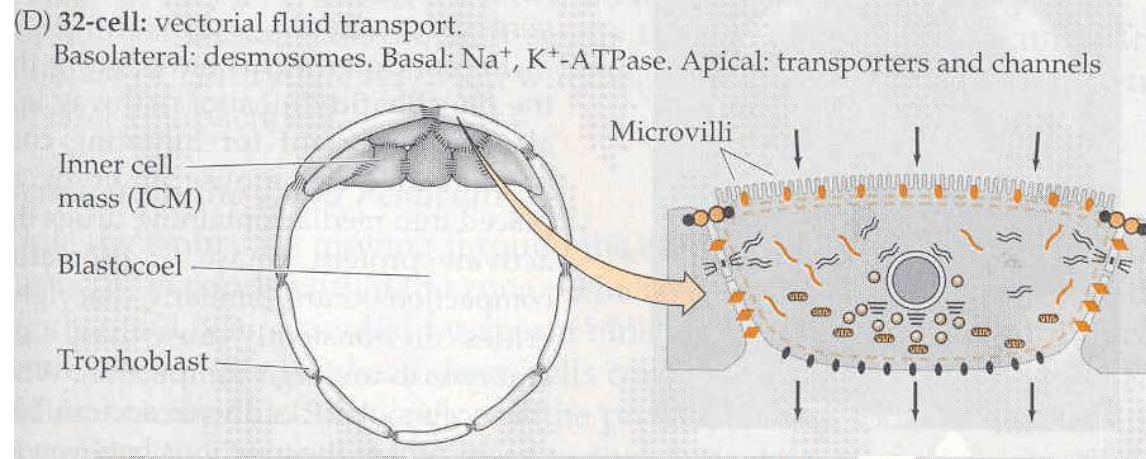
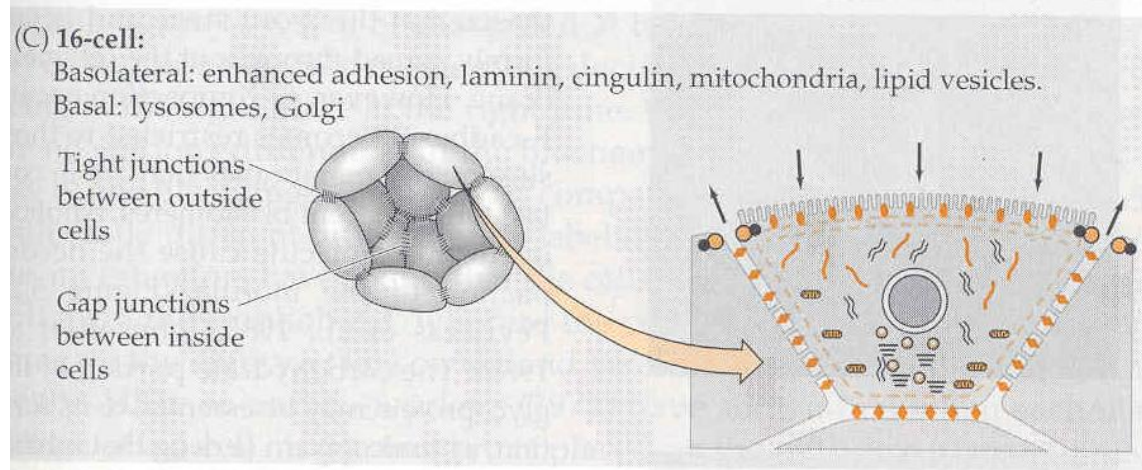
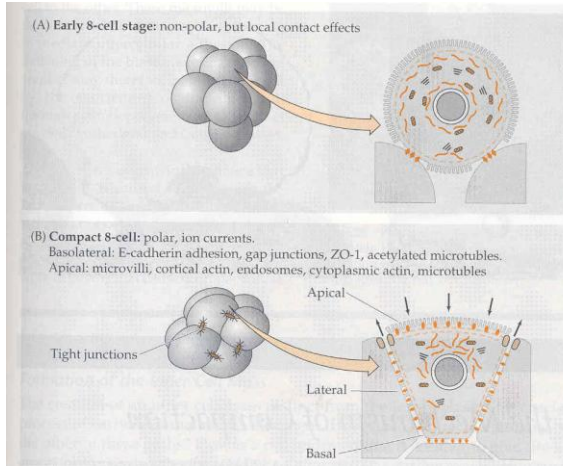
BLSC  
blastomere-like stem cells

ELSC  
Epiblast-like stem cells

Solange die Blastomeren sich „ordentlich“ entwickeln, einige Zellen bleiben zurück als Reservzellen (Precursorzellen), woraus sich die **PROGENITORZELLEN** (*Bildende Reservzellen*) und **STAMMZELLEN** (*Korrektion*) entwickeln.

Auch in der MORULA phase sind schon totipotente und pluripotente Stammzellen anwesend. Totipotenz – die Differenzierungspotenzial ist das selbe wie bei dem BLASTOMER (morula)

# ADHESIONSMOLEKÜLE IN FURCHUNG



**Aussere Schicht**

**TROPHOBLAST**

**Tight junctions**

**$\text{Na}^+$  Ionkanäle und Pumpen**

**Innere Schicht**

**EMBRYOBLAST**

◆ E-cadherin	≡ Desmosomes	⊔ Tight junction (ZO-1)
↓ Ion current direction	○ Secondary lysosomes	●● (ZO-1)+cingulin
● $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPase	≡ Golgi	--- Cortical actin
⊔ Gap junctions	≈ Cytokeratin filaments	⋯ Microvilli
◆ Apical membrane proteins	— Microtubules and cytoplasmic actin	⊕ Mitochondria

# KAVITATION DER MORULA

4 Tagen nach der Ovulation

## FRÜHE BLASTOCYSTBILDUNG

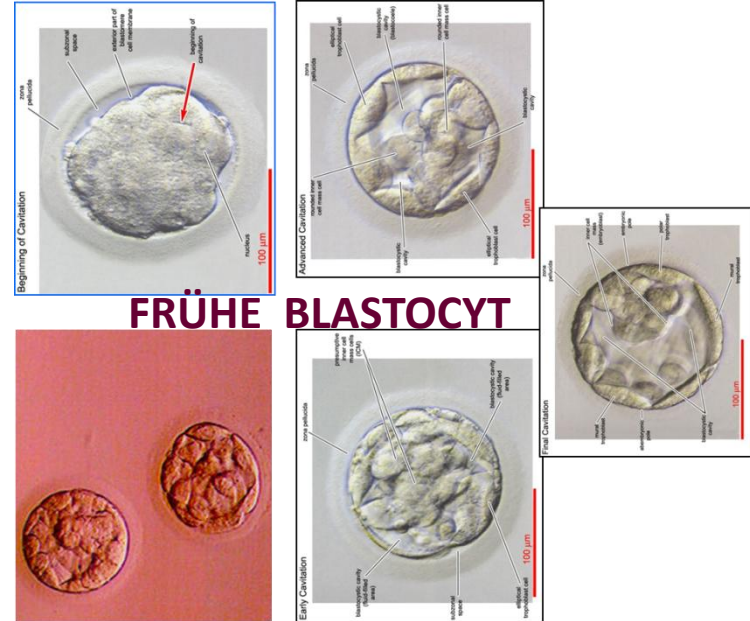
0.1 - 0.2 mm

## MORULA (*Maulbeerkeim*):

- erreicht den UTERUS
- ständige Mitose

## BLASTOCYST

- Höhlenbildung  
(blastocoel – primäre Leibeshöhle)
- die Zellen werden flach und kompakt
- ZONA PELLUCIDA (wächst nicht mit)
- 2 Zelltypen:
  - embryoblast (innen)
  - trophoblast (ausen)



## FRÜHE BLASTOCYT

BLASTOMEREN = MORULAZELLEN

2 Schichten von Zellverbindungen

- innen - GAP JUNCTION
- aussen – TIGHT JUNCTION  
(und Na-pumpen)

Innerhalb 3 bis 4 Tage nach der Befruchtung aus den Interzellularspalten flüssigkeitsgefüllte Interzellularräume entwickeln die zur Blastozystenöhle konfluieren.



# HATCHING - DIE BLASTOZYST SCHLÜPFT - VORBEREITUNG FÜR DIE IMPLANTATION

DIE BLASTOZYST erreicht den Uterus  
„*schlüpft*“ aus der **ZONA PELLUCIDA**  
0.1 - 0.2 mm

5 - 6 Tage nach der Ovulation/Fertilisation  
folgt die **IMPLANTATIO**  
die Blastula schwimmt und anhaftet  
(*TrophoblastEnzyme fressen das  
Endometrium auf*)

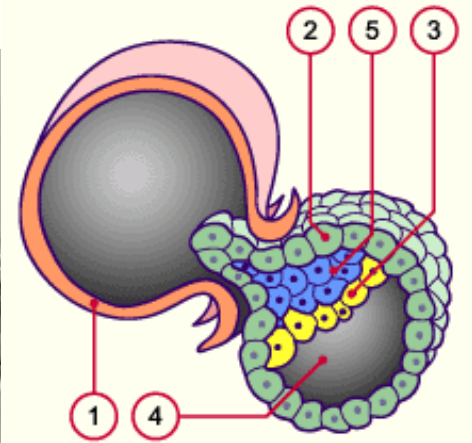
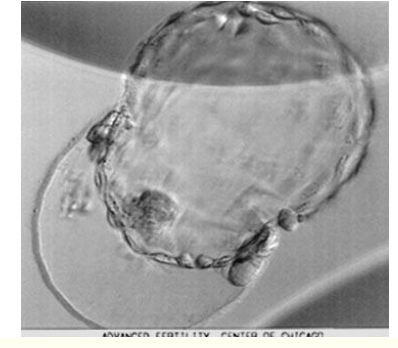
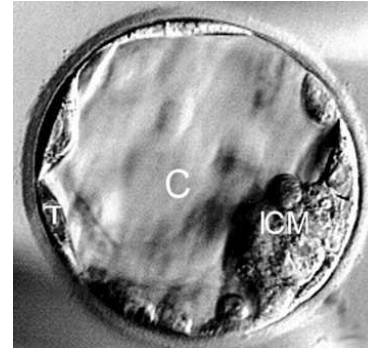
## APPOSITION

Embryoknoten - richtung Endometrium  
Die zwei Flächen sind Zell-zu-Zell direkt  
durch Proteoglykanen verbunden

hCG, progesteron release steigt  
**positiver Schwangerschaftstest**

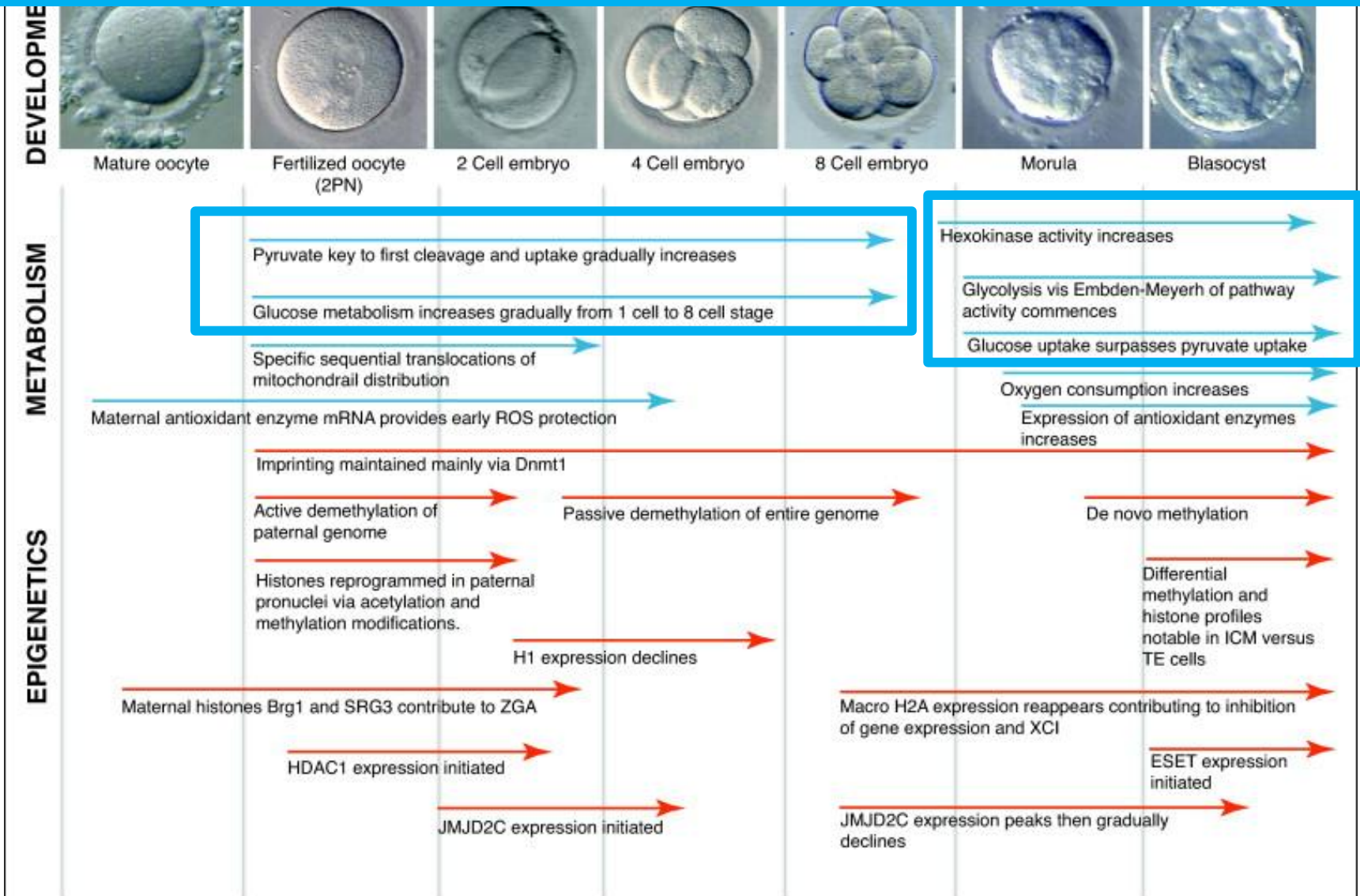
## ENDOMETRIUM

Drüsenproliferation, Schwellung  
Gefäßenproliferation



# WIE IST DIE ZYGOTE GEFÜTTERT?

Erst PYRUVAT - dann ZUCKER



# EMBRYONALENTWICKLUNG

## 3-5. Tage

- Eigenes Genom dirigiert.
- Blastomeren werden mehrfache Verbindungen entwickeln.
- Kompaktation, die Zellen sind nicht mehr totipotent.
- Eigenes Ionengradient.
- Erhöhte Glucosenaufnahme (niedrigerer Laktat Spiegel).
- Aminosäurenmetabolismus– Transamination wird schneller. (leucin, alanin)

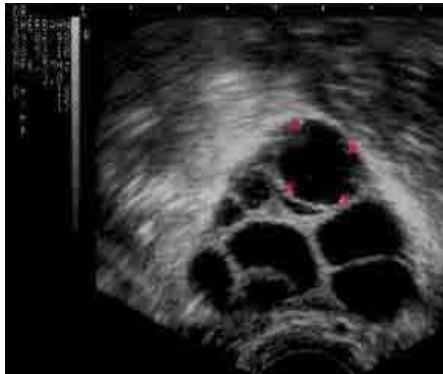
# IN VITRO FERTILIZATION



ICSI – „intracytoplasmic sperm injection“



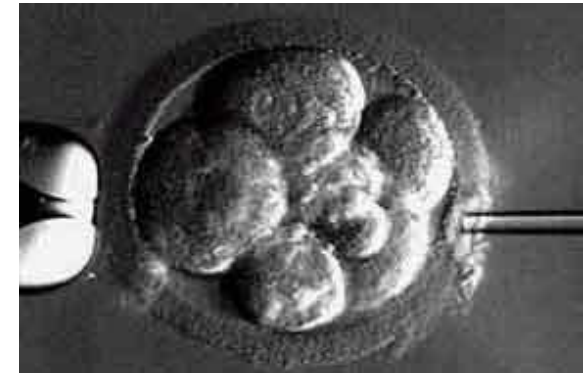
Ovarielle Stimulation



Embryobiopsie



„assisted hatching“



Ultraschall geführte  
Oozytenabsaugung

**Gleich geht's weiter!**

