

ALLGEMEINE EMBRYOLOGIE



***GAMETOGENESE,
FERTILISATION,
FURCHUNG***

Dr. Andrea D. Székely

Semmelweis Universität

Medizinische Fakultät

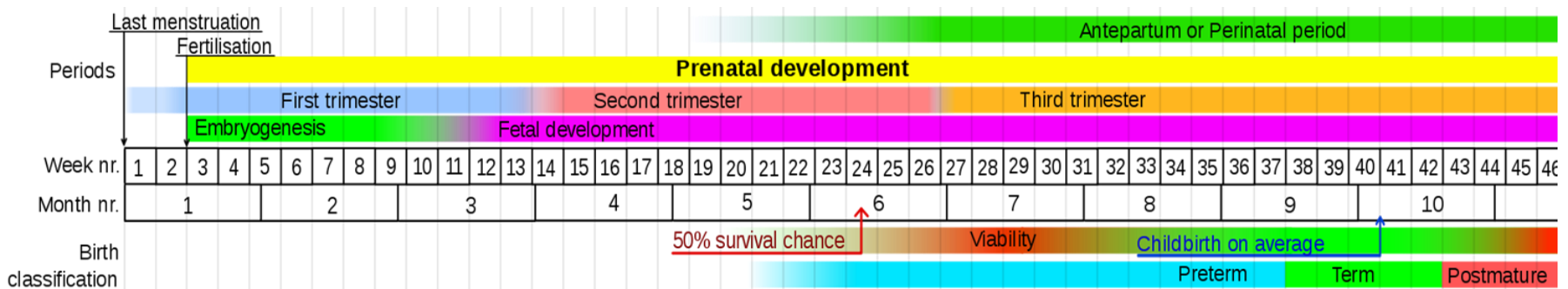
Institut für Anatomie, Histologie und Embryologie

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

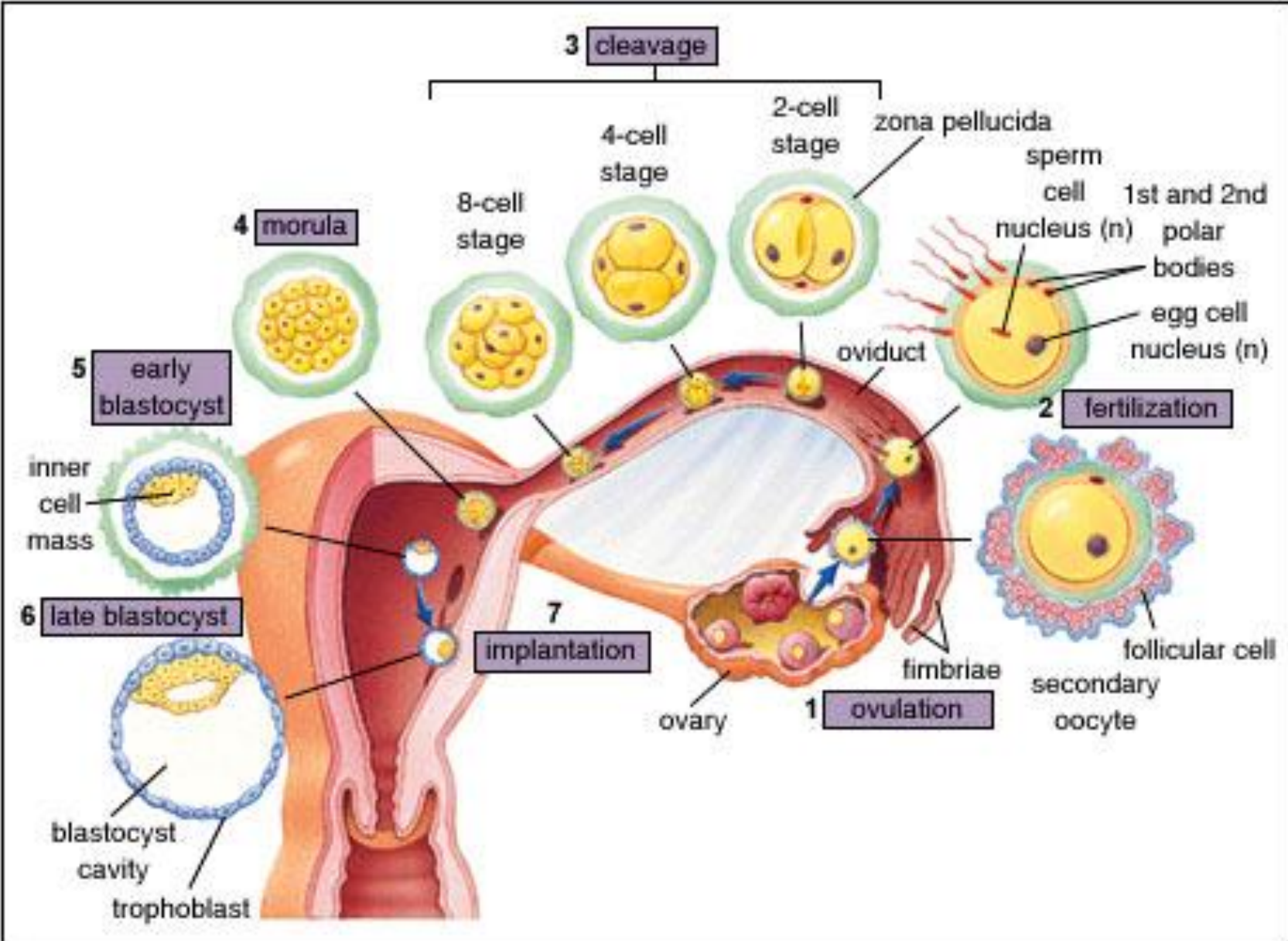
- Bildung der Keimdrüsen (XX, XY)
- Mitose, Meiose, crossing over (*genetische Variabilität*)
- Gametentypen, Entwicklung, Unterschiede (zB Zahl: 4:1) **HAPLOID Zellen**
- Prerequisite der Befruchtung (zB. *Kapacitation von Spermien*)
- Endokrine „Vorbereitung“
- ZONA PELLUCIDA („*Dornröscheneffekt*“)
- 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

HANDIES

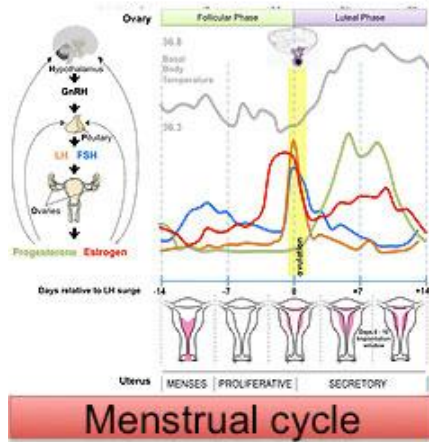
BITTE

VORBEREITEN 😊

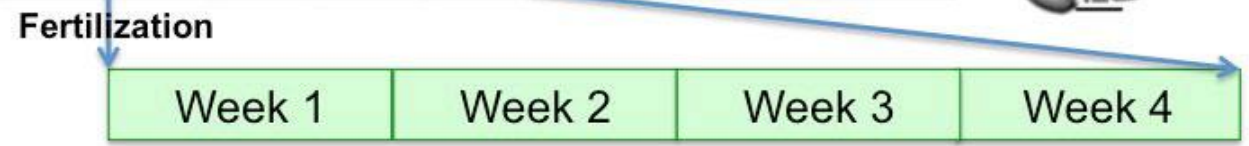
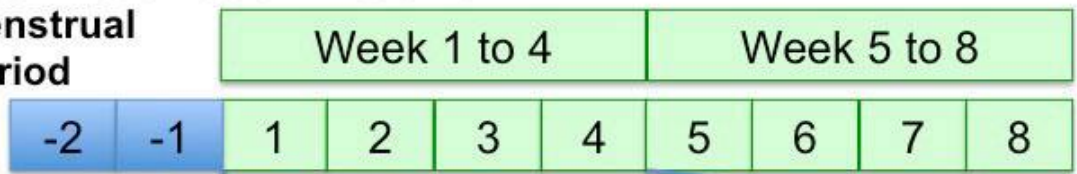
ERSTE WOCHE



Human Development Timeline



Last Fertilization Positive Menstrual Period



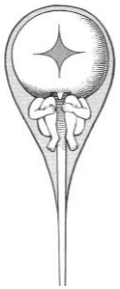
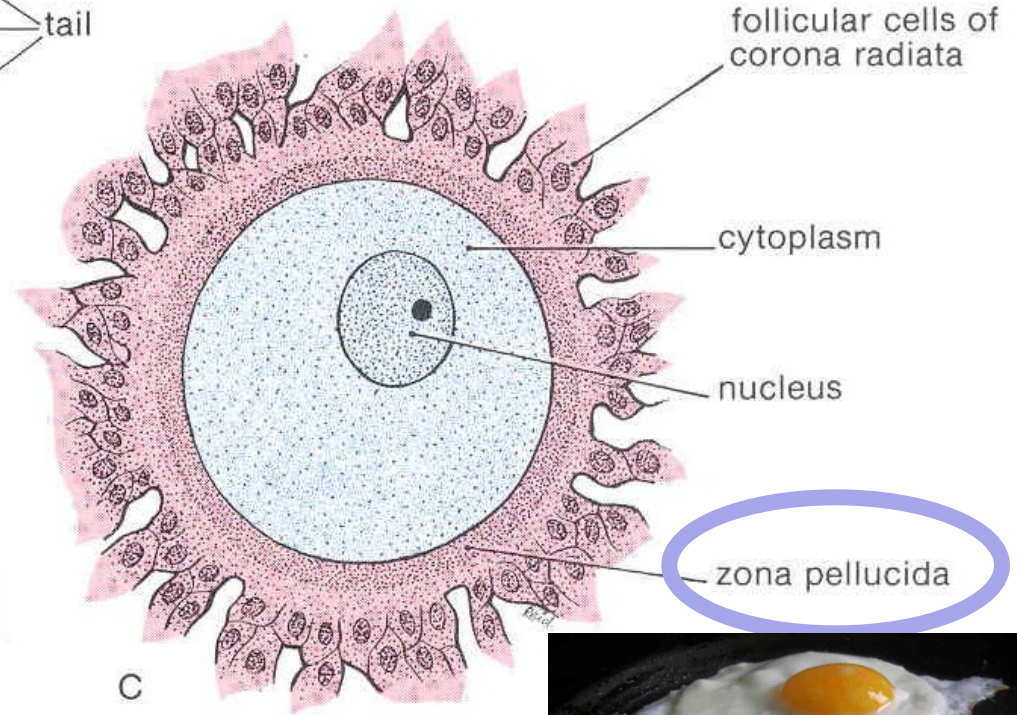
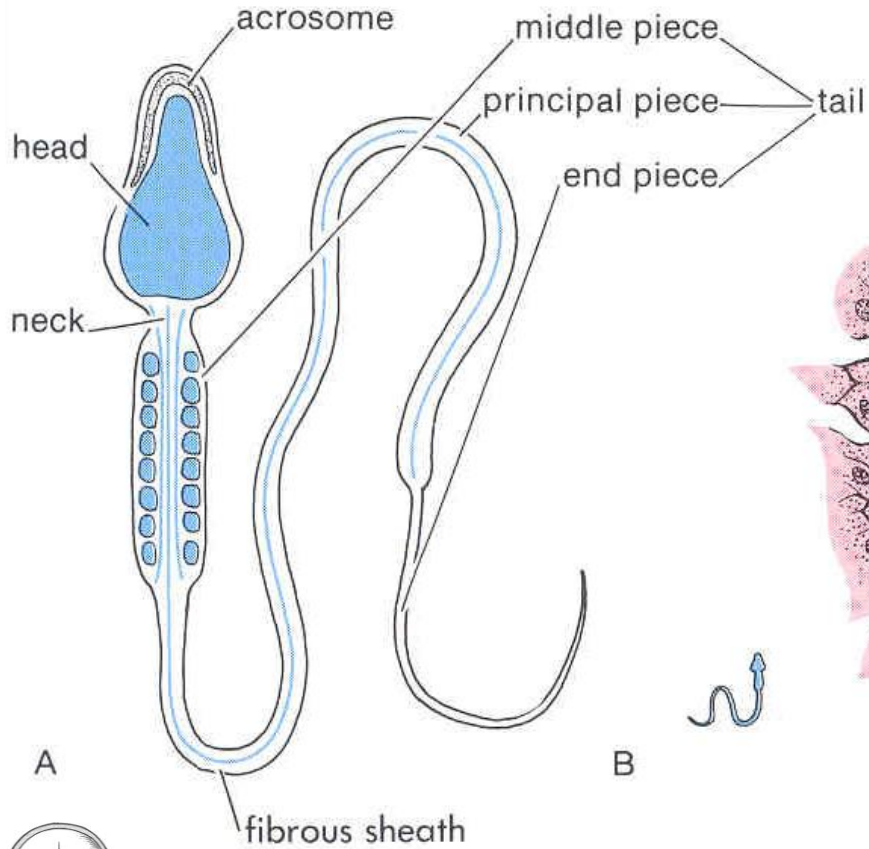
Events

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

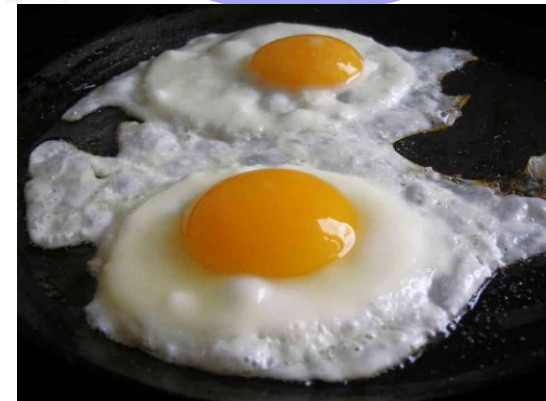
MENSCHLICHE GAMETEN

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

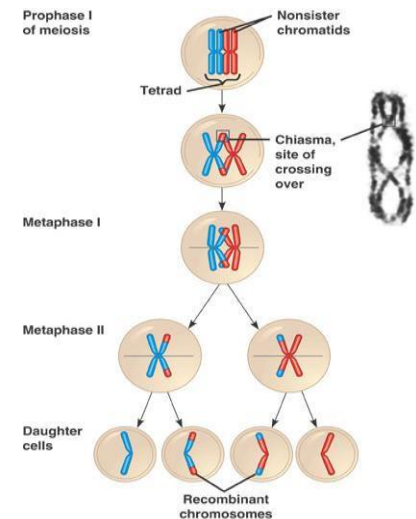
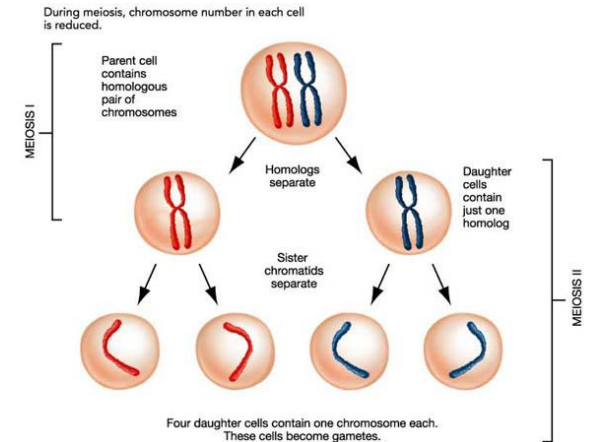
- Schwesterkromatiden separieren sich (23 single chromosomes)

„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



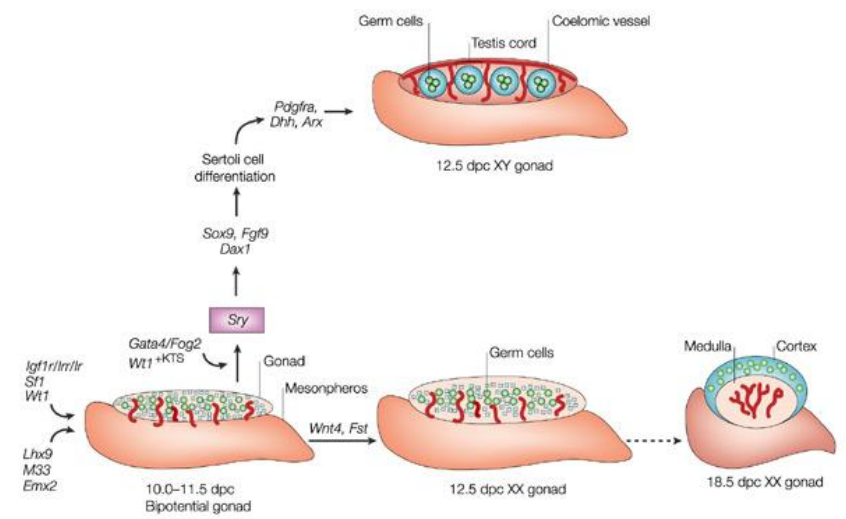
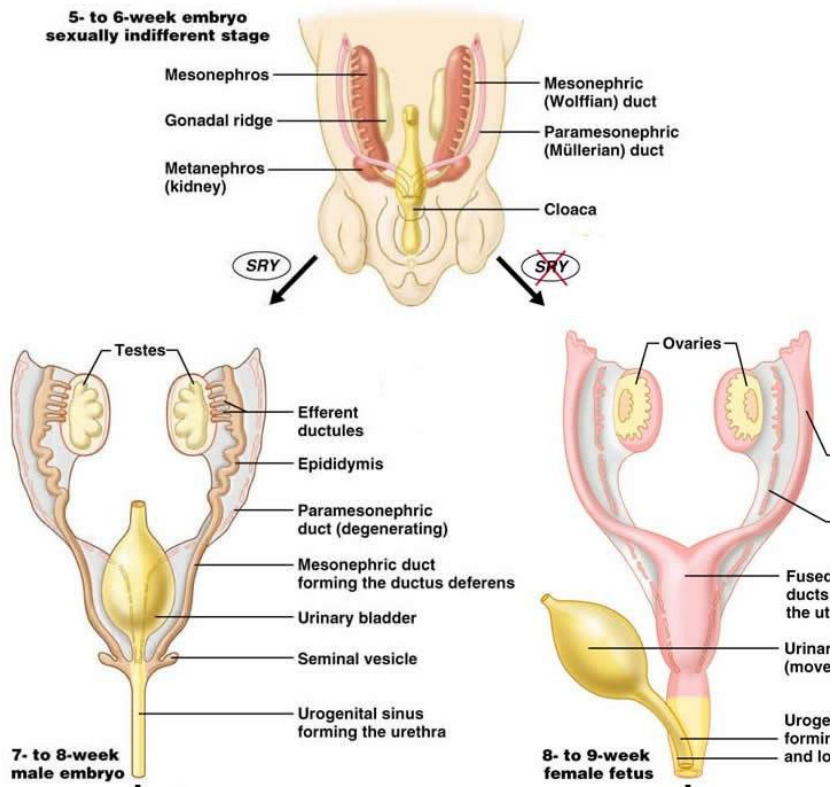
GAMETENBILDUNG, GONADEN

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)

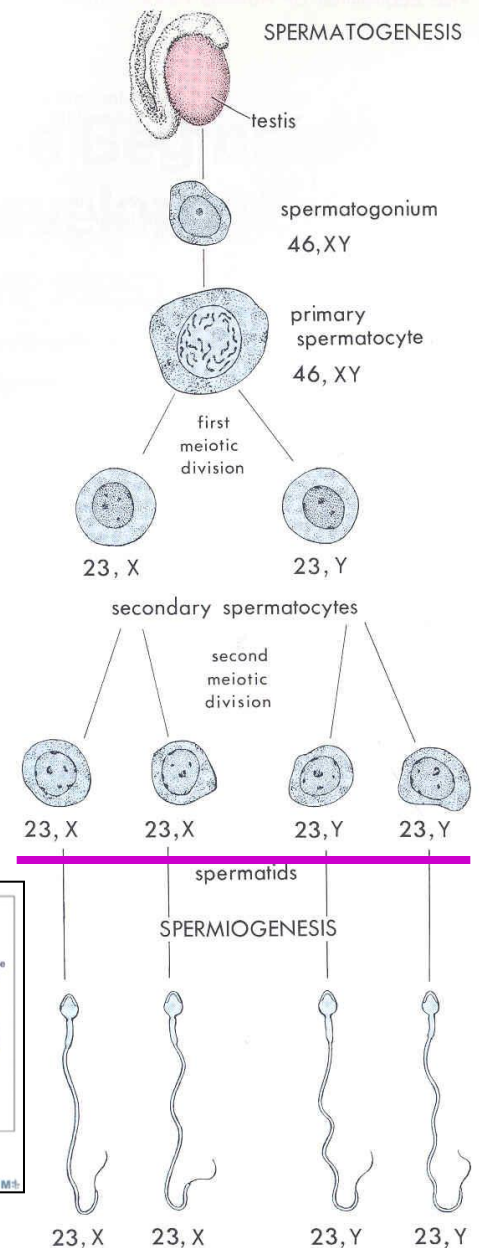
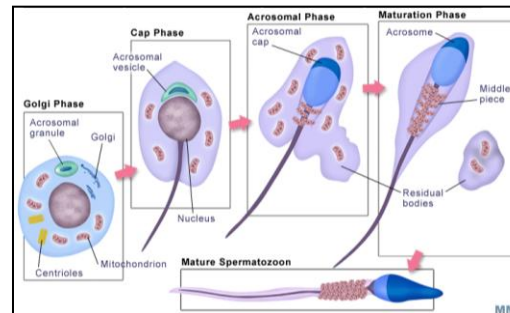
Bildung des *SPERMIIUM*

cca. 70 Tage

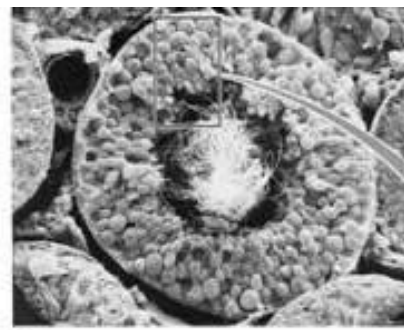
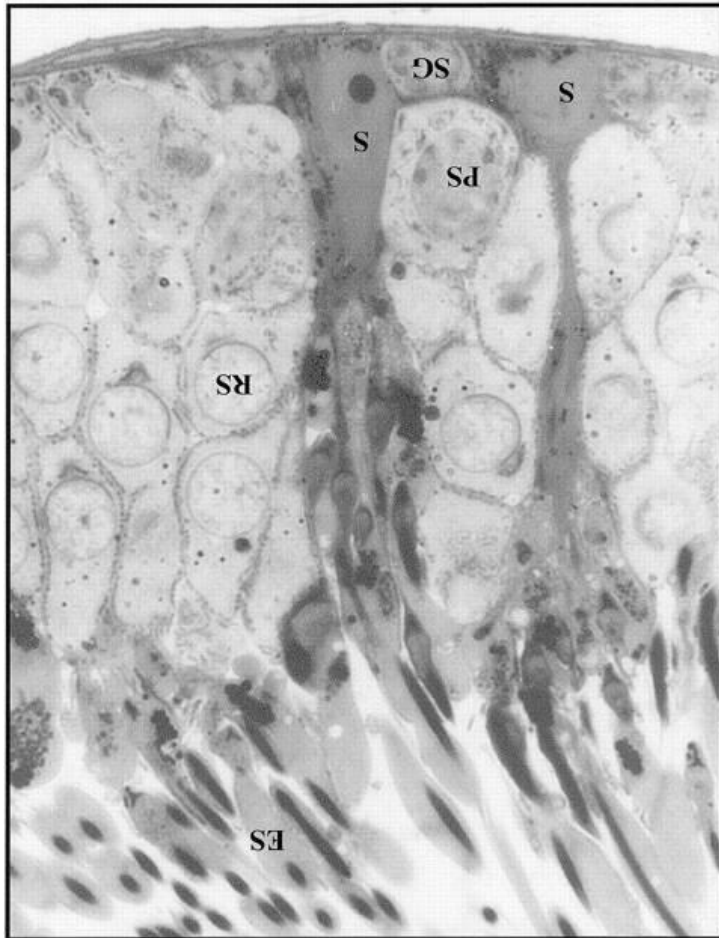
(4 Wochen Hoden - 6 Wochen Nebenhoden)

Sertoli Zellen- FSH Rezeptoren

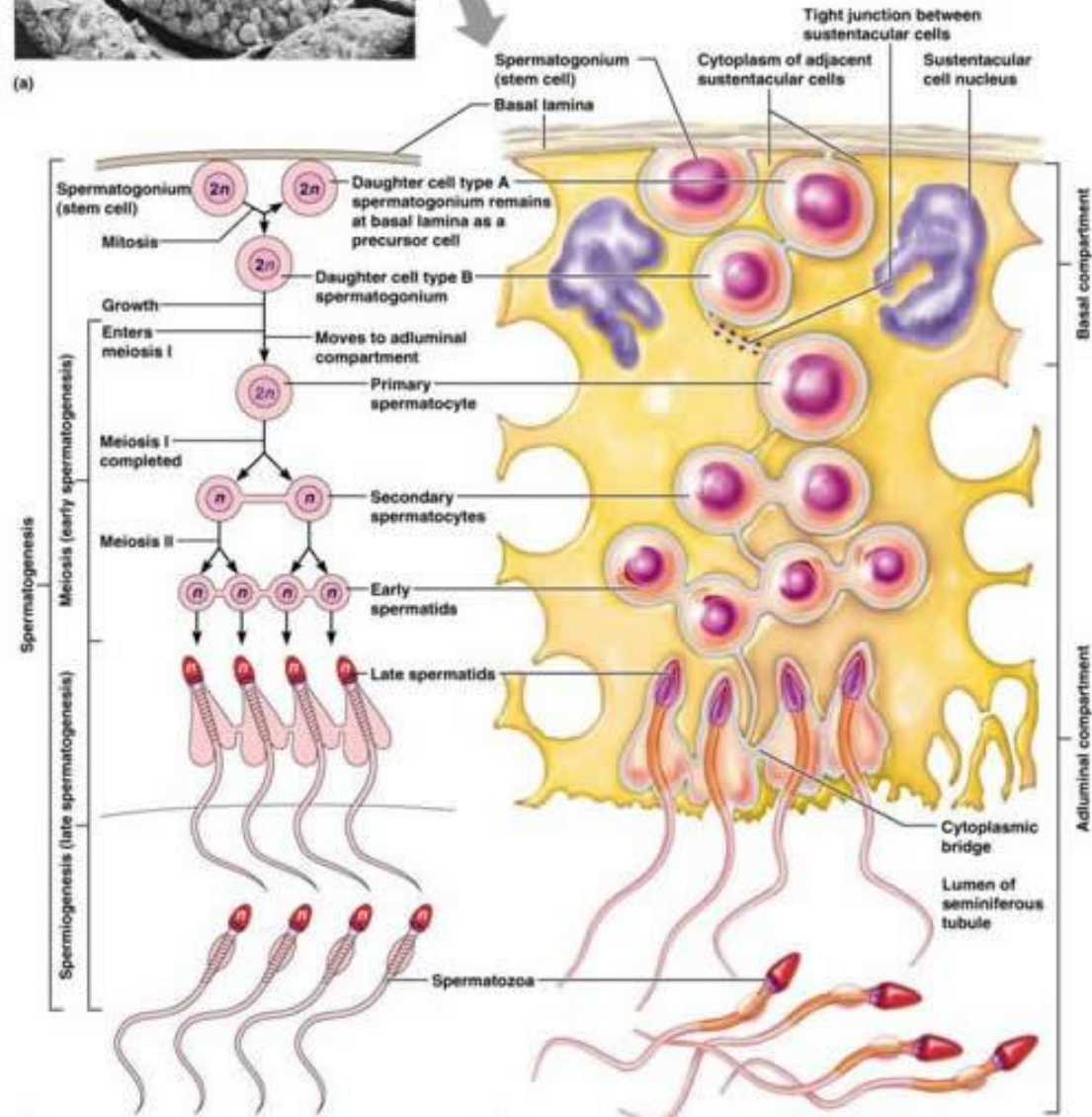
Leydig Zellen- LH Rezeptoren – **Testosteron Produktion**



SPERMATO- UND SPERMIOGENESE

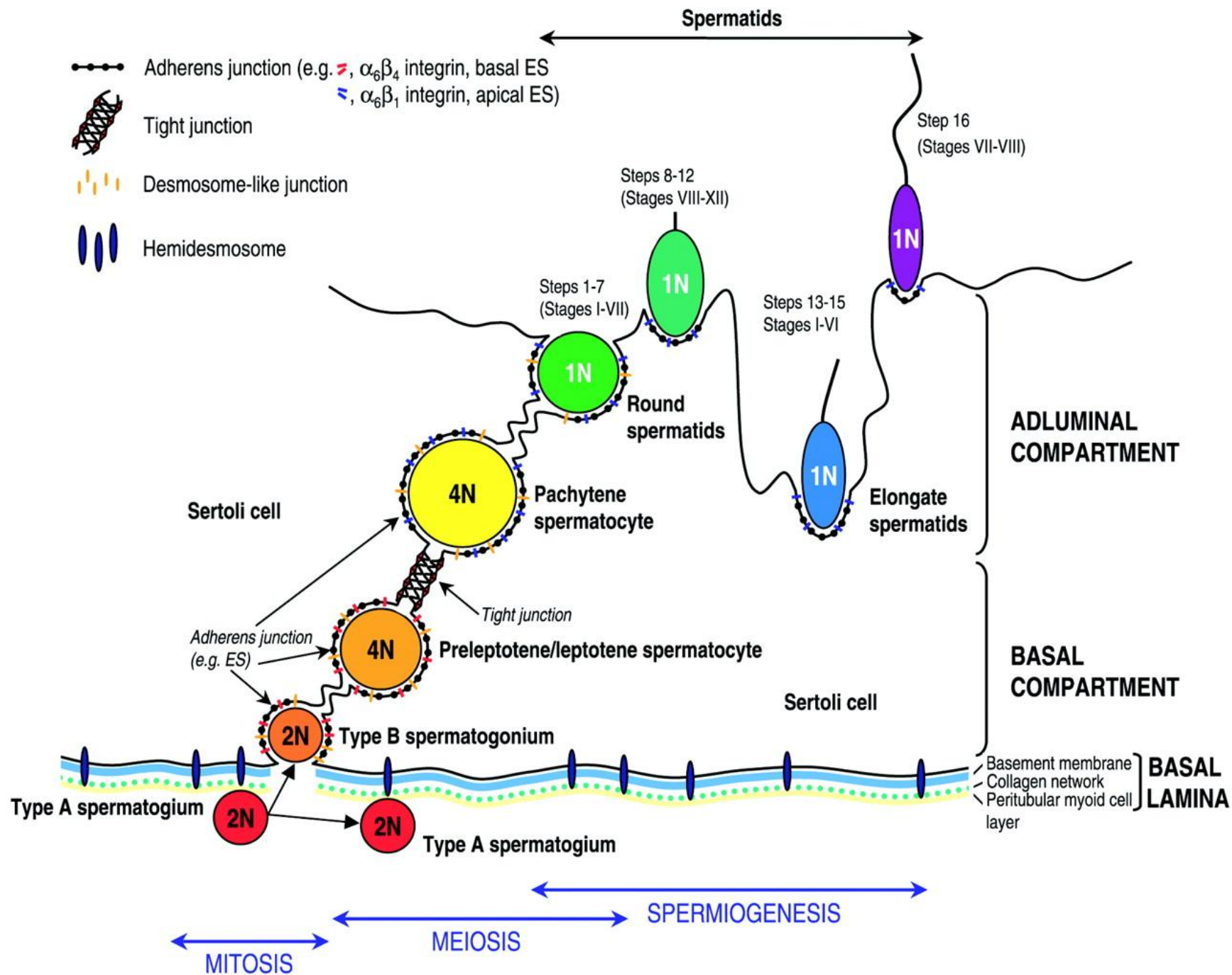


(a)



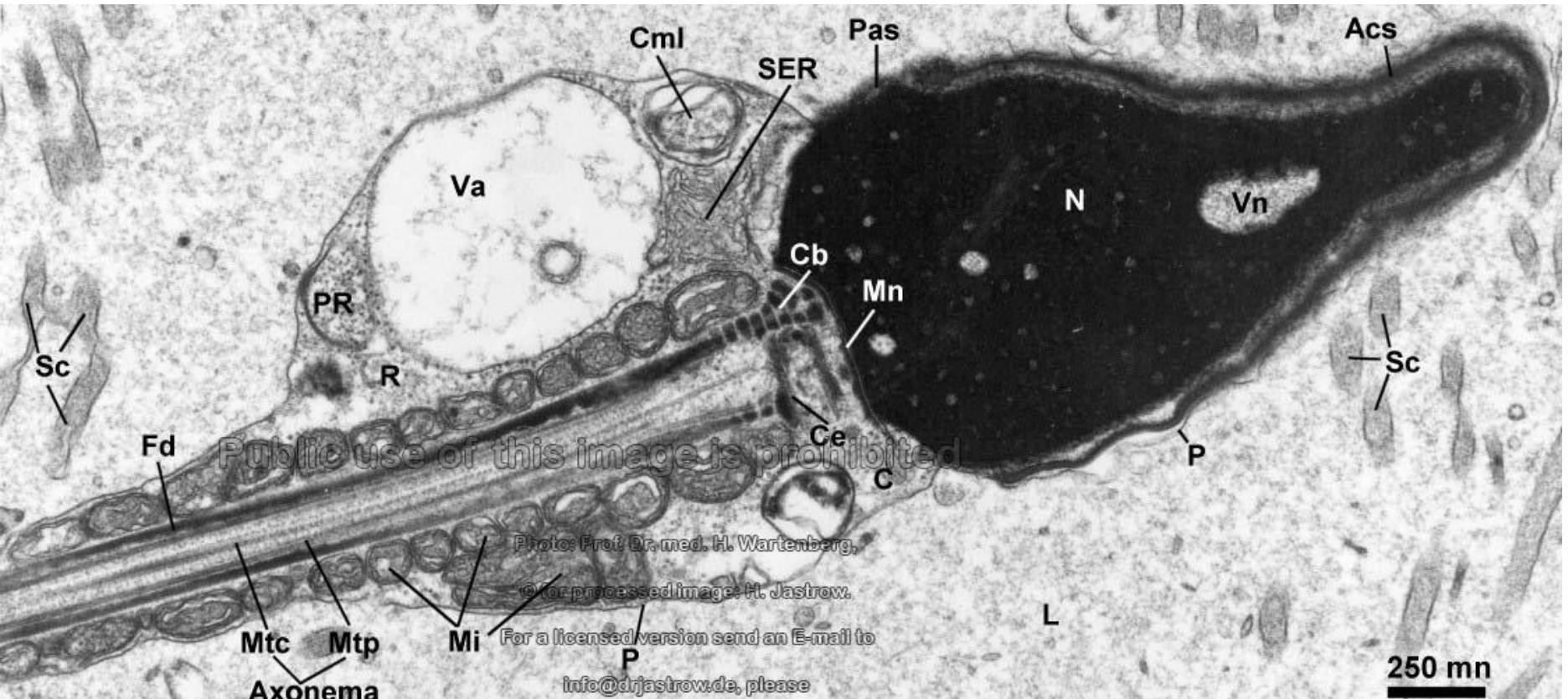
(b)

(c)



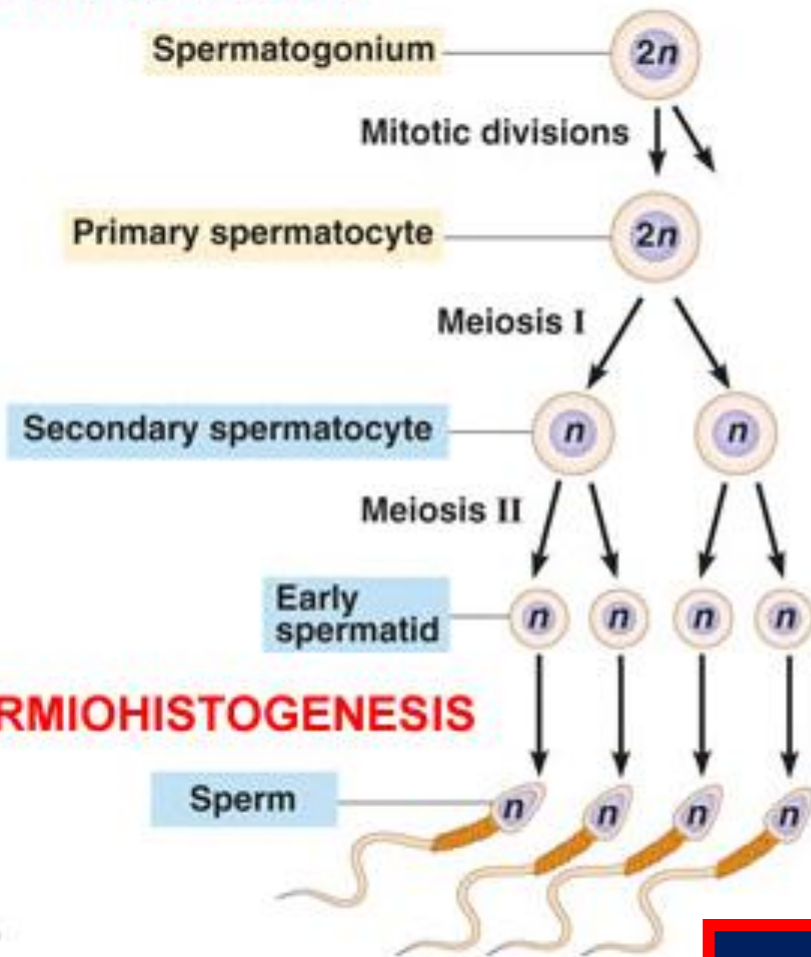
SPERMIUM

ELEKTRONMIKROSKOPISCHE ABBILDUNG



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

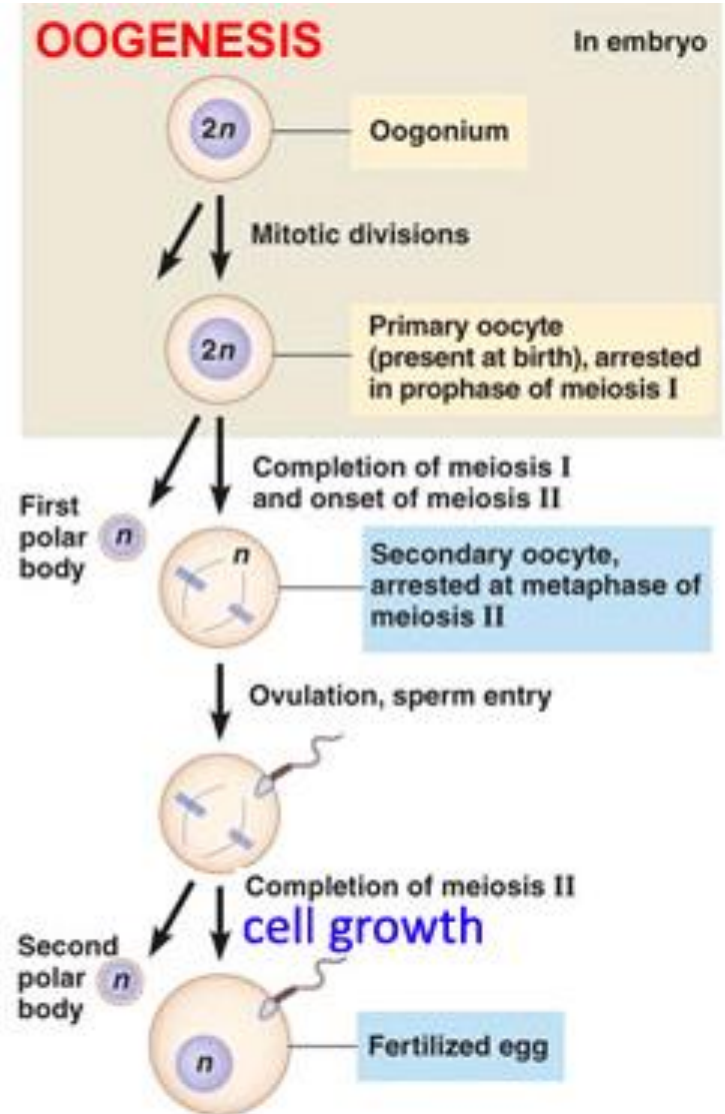
SPERMATOGENESIS



SPERMIOHISTOGENESIS

4 : 1

OOGENESIS



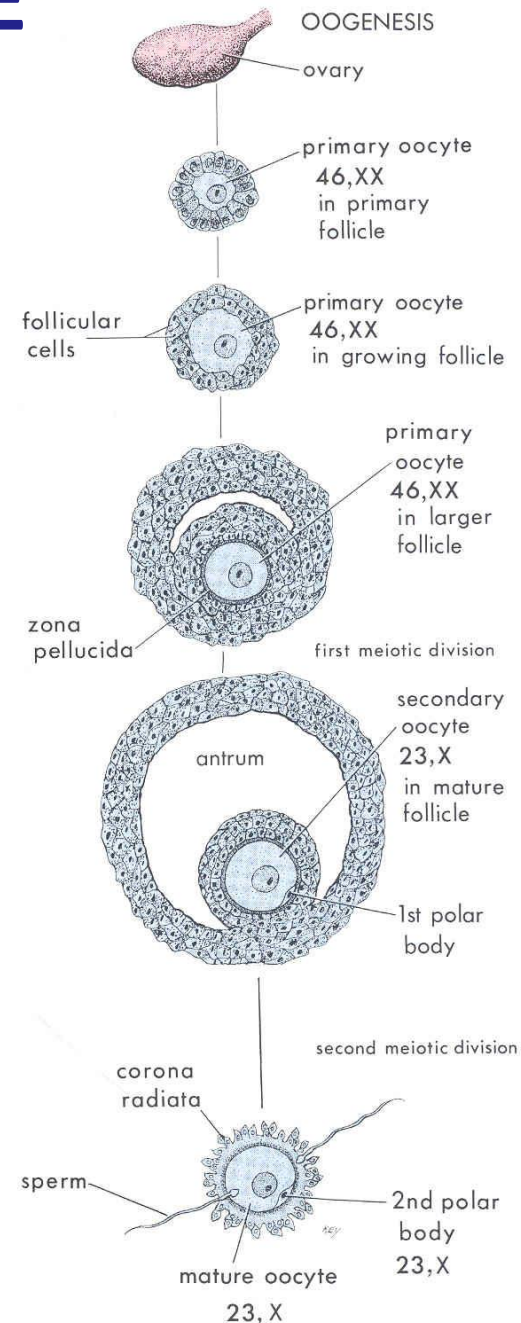
STADIEN DER OOGENESE

PRENATALE PHASE

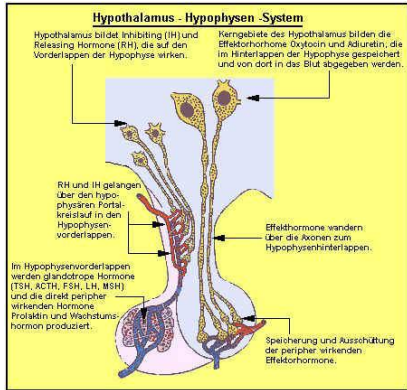
- serielle mitotische Zellteilungen (*Urkeimzellen*)
- Vergrößerung (*primäre Oocyte in einem Primordialfollikel*)
- erste meiotische Teilung bleibt in der Prophase aufgehalten

POSTNATALE PHASE

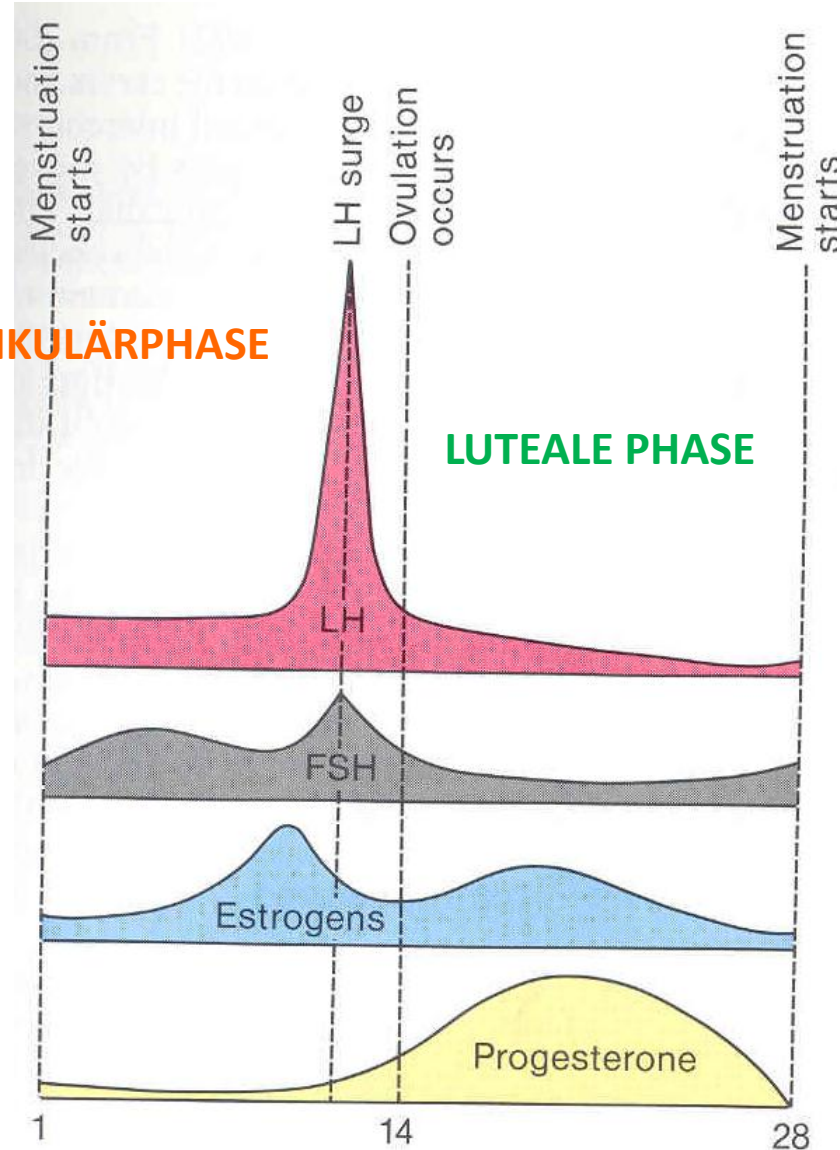
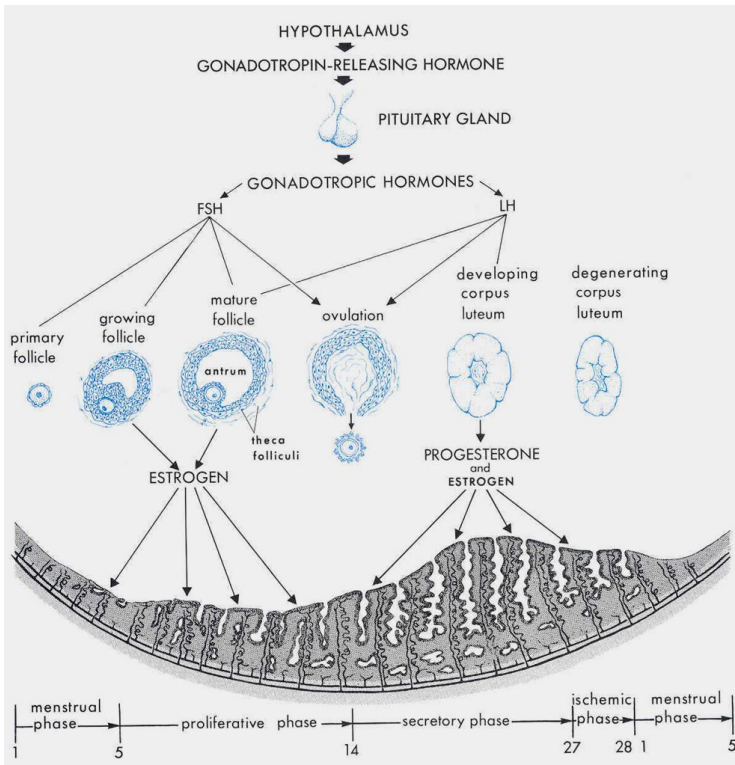
- In der Pubertät geht die Oozytenreifung weiter (*primären Oocyten in primären, dann sekundären Follikeln*)
- Beendet die erste Reifeteilung (meiose)
- Bildung des ersten Polkörpers** (untergeht)
- (*sekundären Oocyten in tertiären - GRAAFsche Follikeln*)
- OVULATION** – zweite Reifeteilung (meiose)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



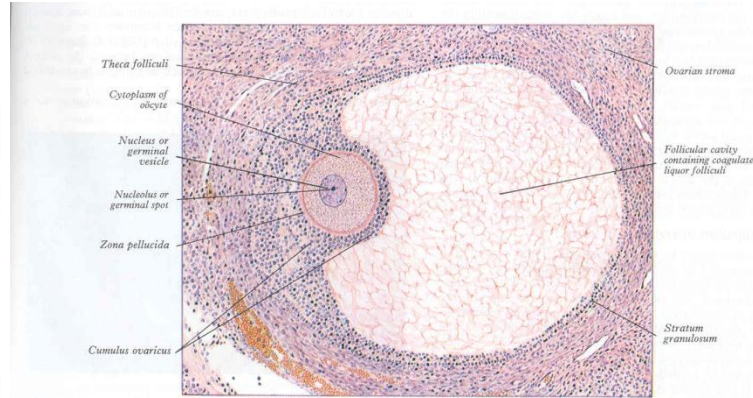
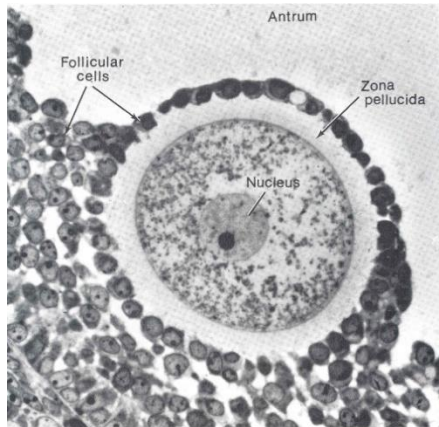
DER MENSTRUATIONSZYKLUS



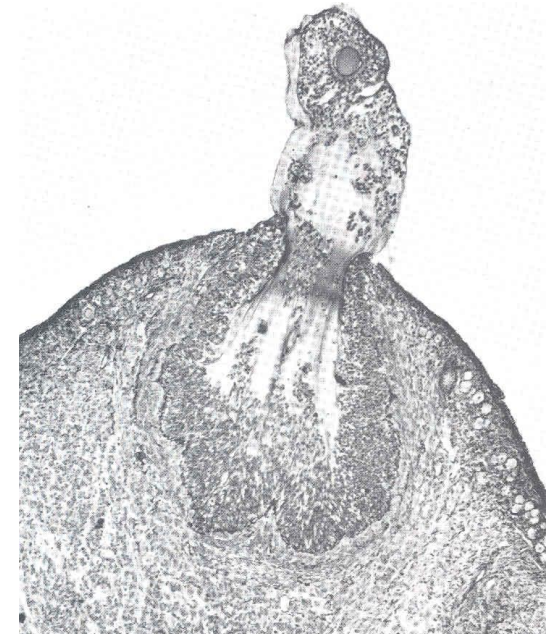
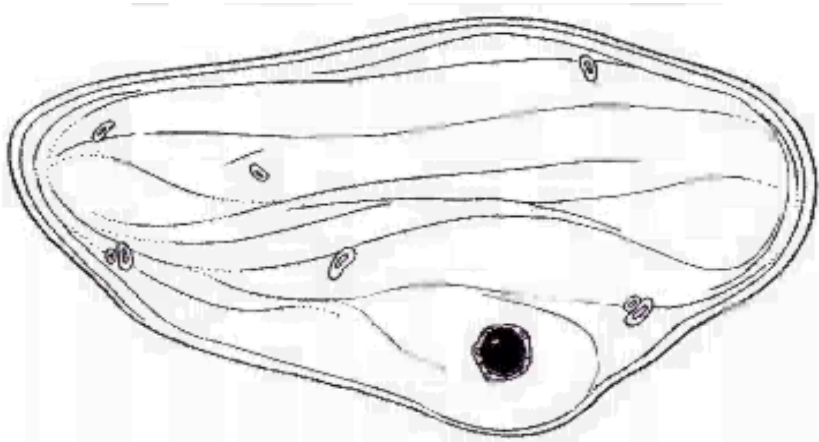
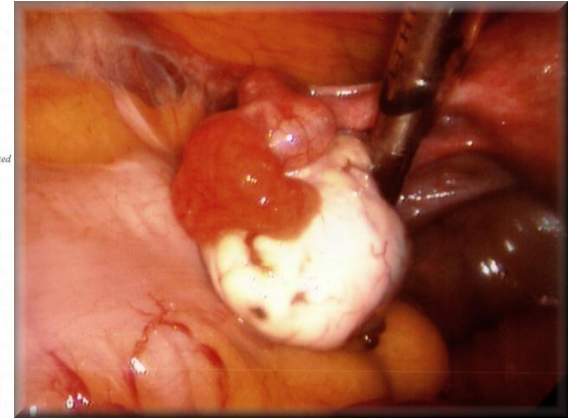
FOLLIKULÄRPHASE



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*)

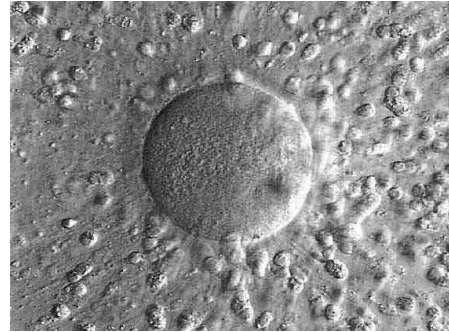
30% Prostatasekret (*fructose*)

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



LIVE **DEAD**

REIFE OOZYTE



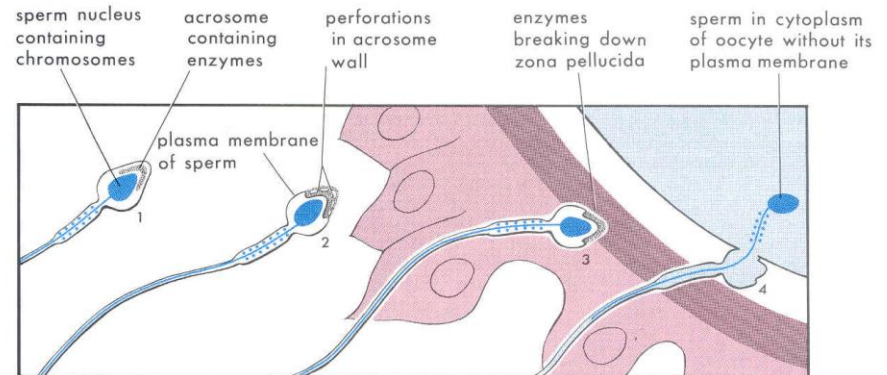
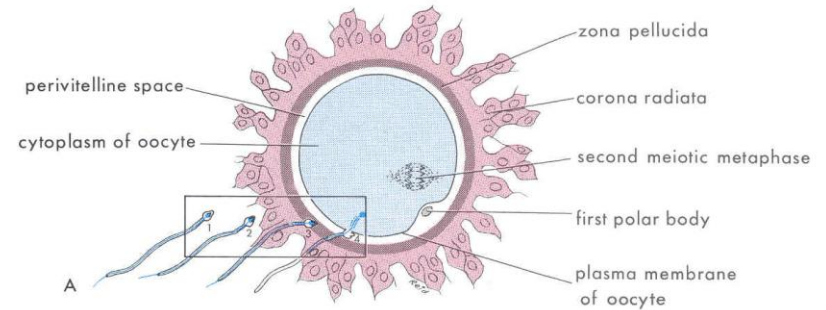
UNREIFE OOZYTE



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 Polkörnchen

Preembryo Bildung

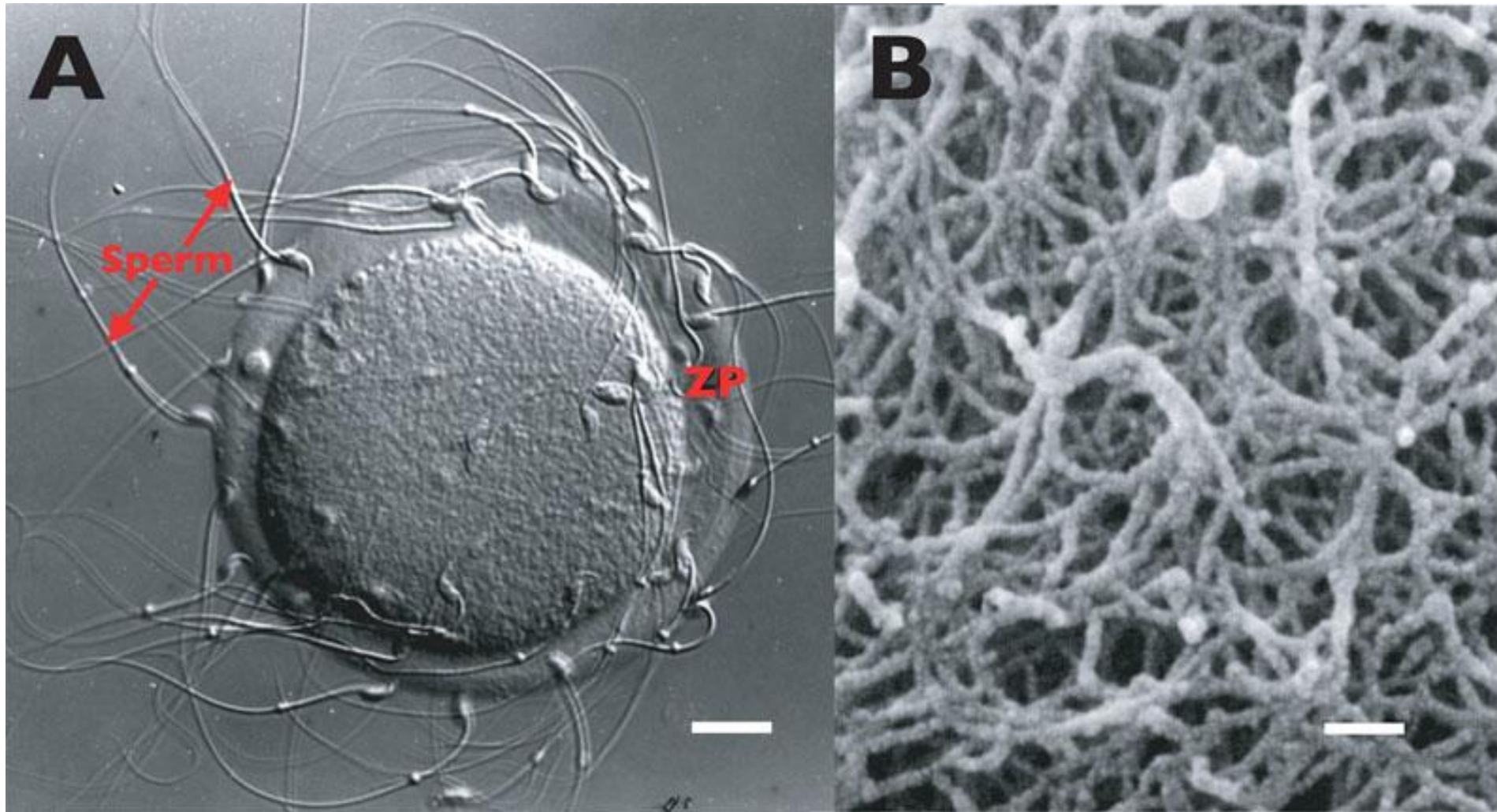
- zwei Vorkerne Verschmelzen
- eine **DIPLOIDE** Zelle entsteht



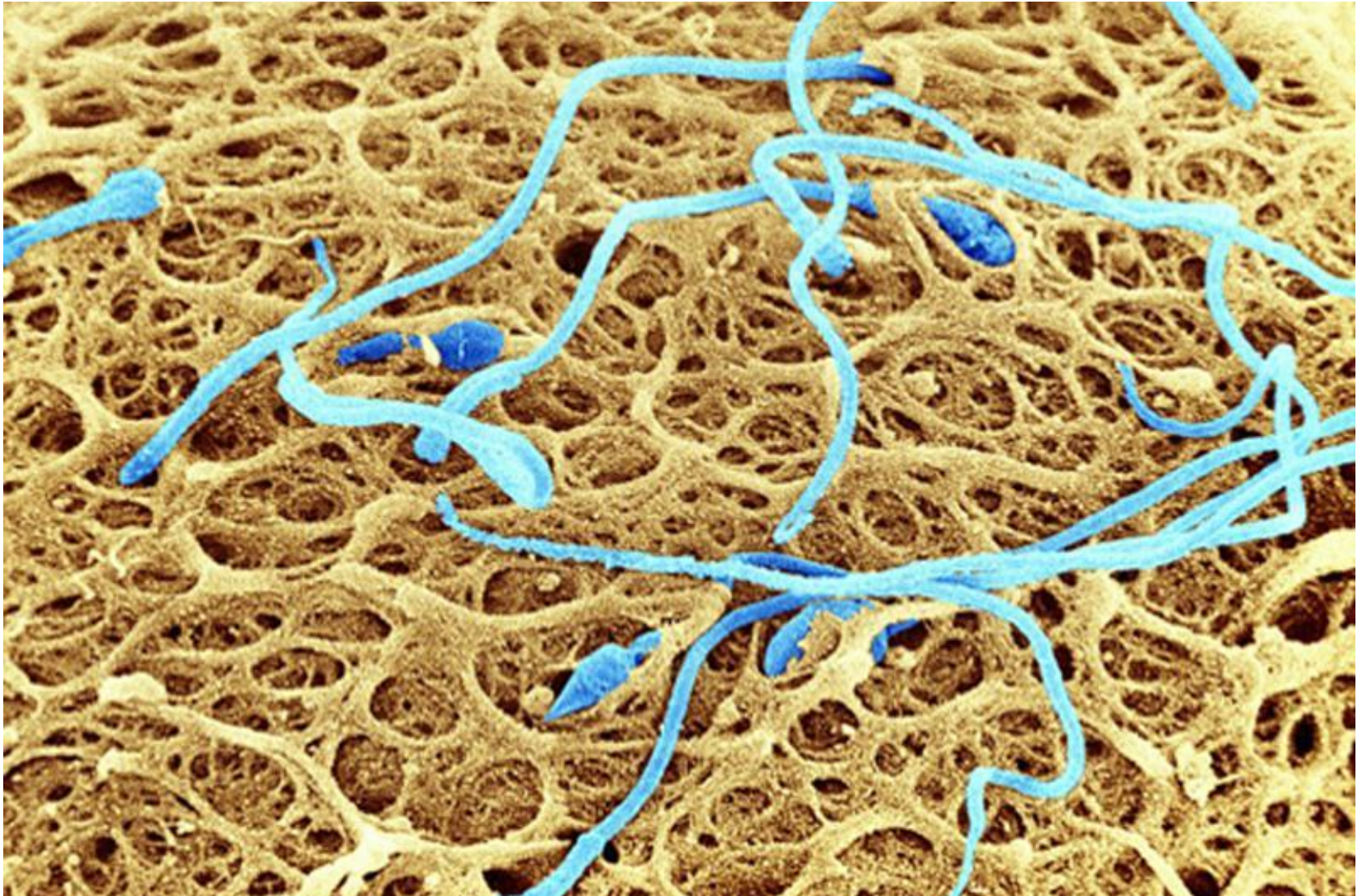
dann
ZYGOTE



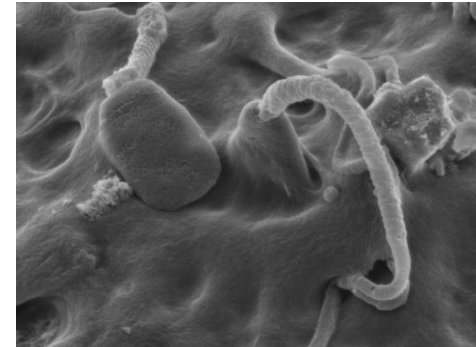
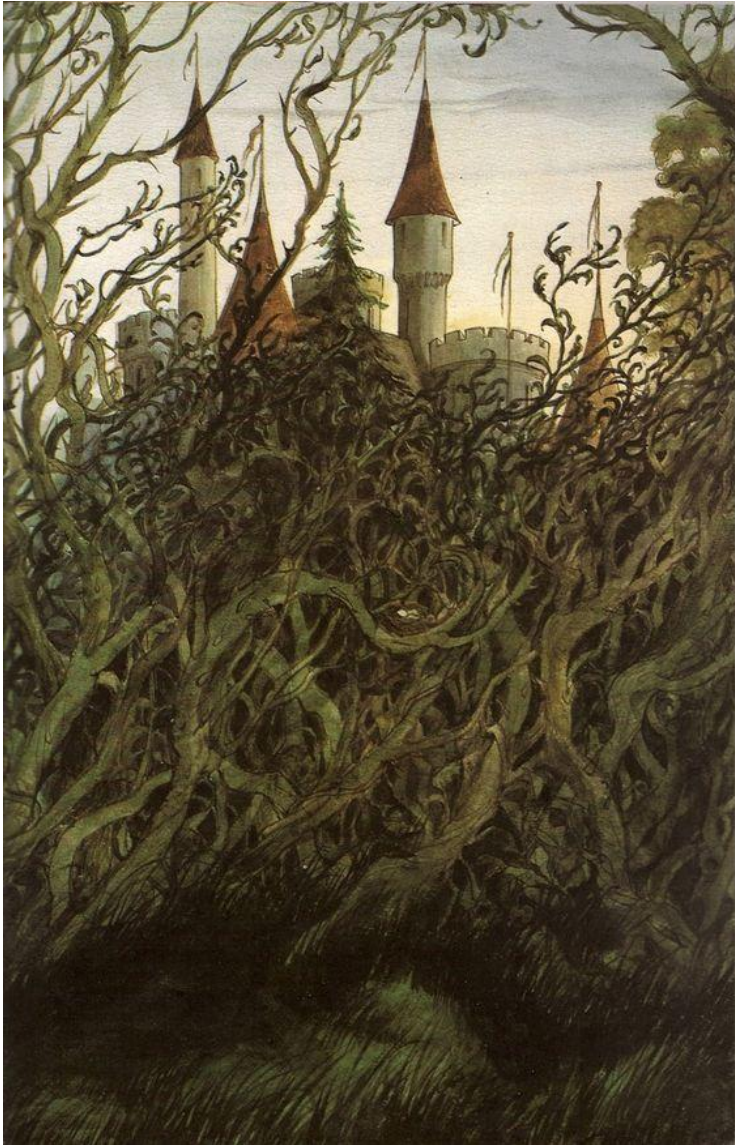
WAS IST DIE ZONA PELLUCIDA?



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

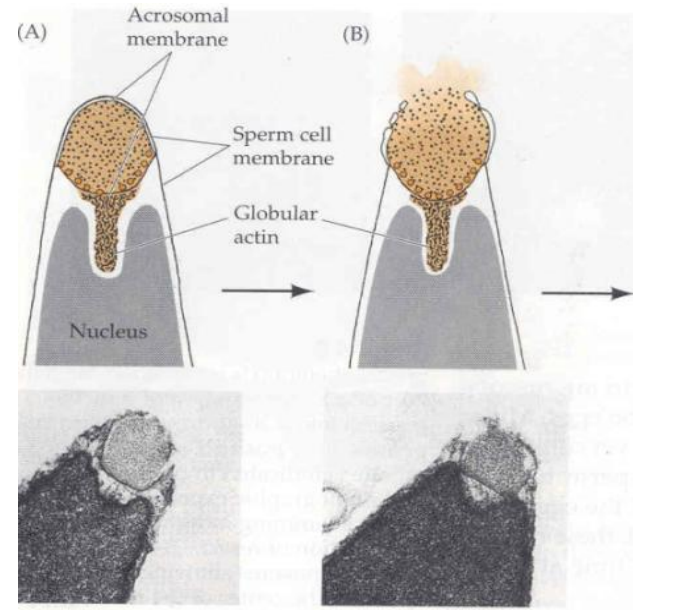
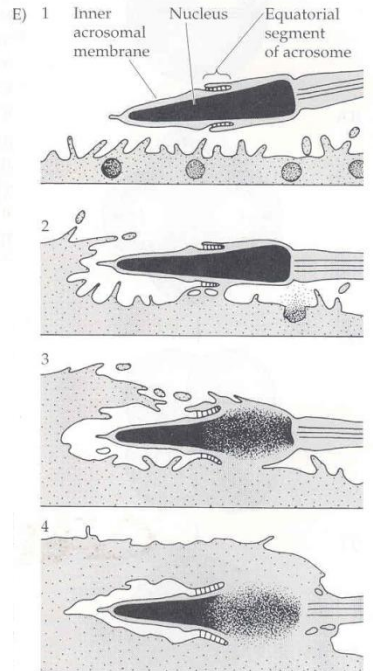
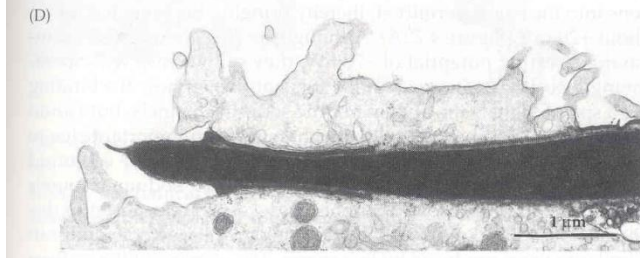
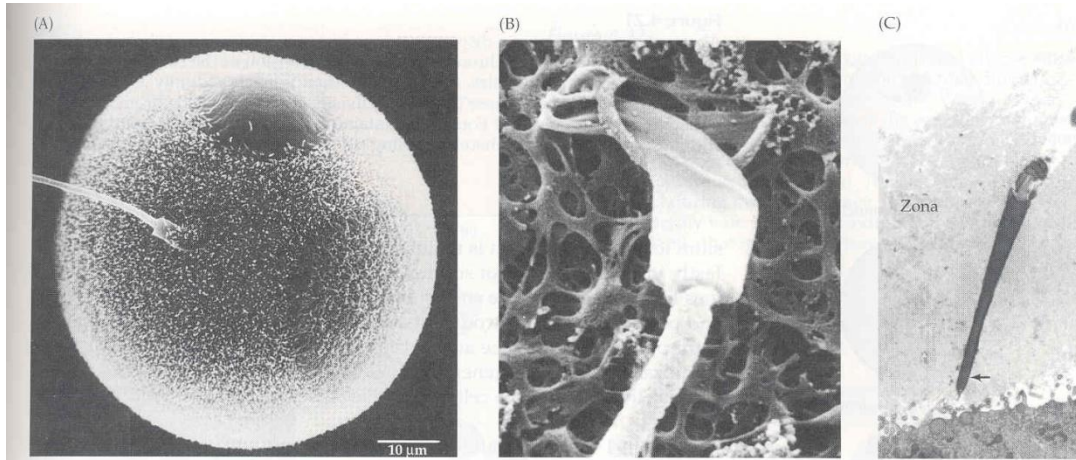
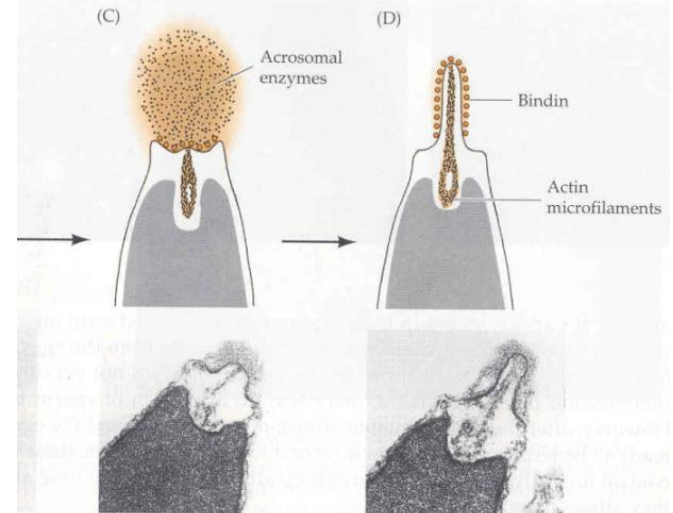


Figure 4.9



BEFRUCHTUNG

KAPAZITAZION

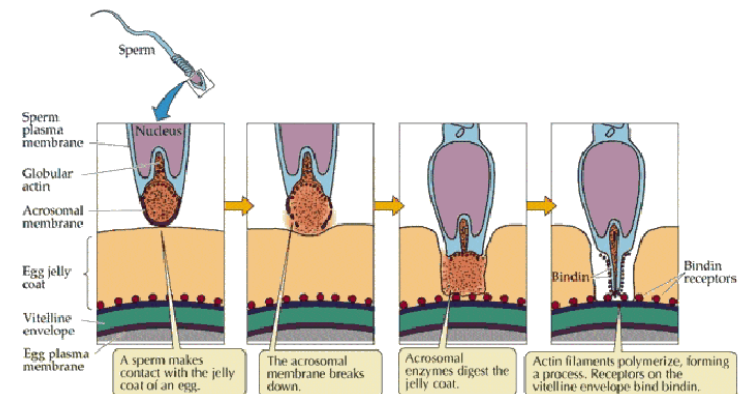
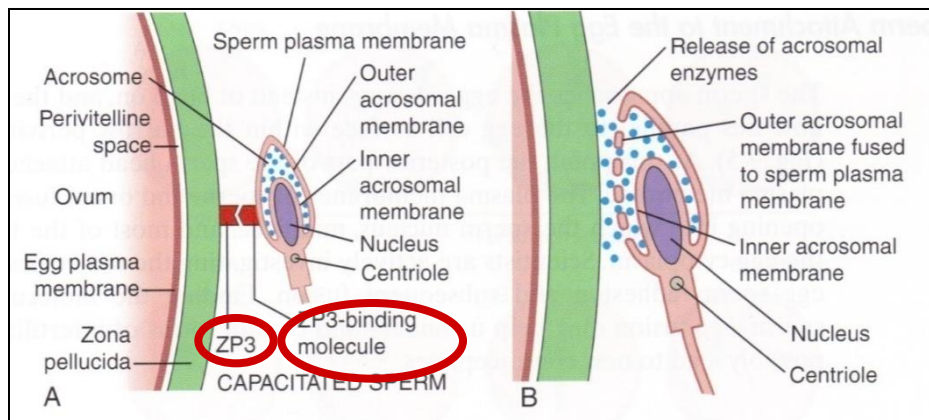
Die Kapazitation ist eine funktionelle Reifung des Spermatozoons. Die Veränderungen laufen über die Spermienzellmembran ab, bei der durch das Abtragen einer Glycoproteinschicht möglicherweise Rezeptoren freigegeben werden. Auch der Bereich der Akrosomal-Kappe wird dadurch so verändert, dass die Akrosomalreaktion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

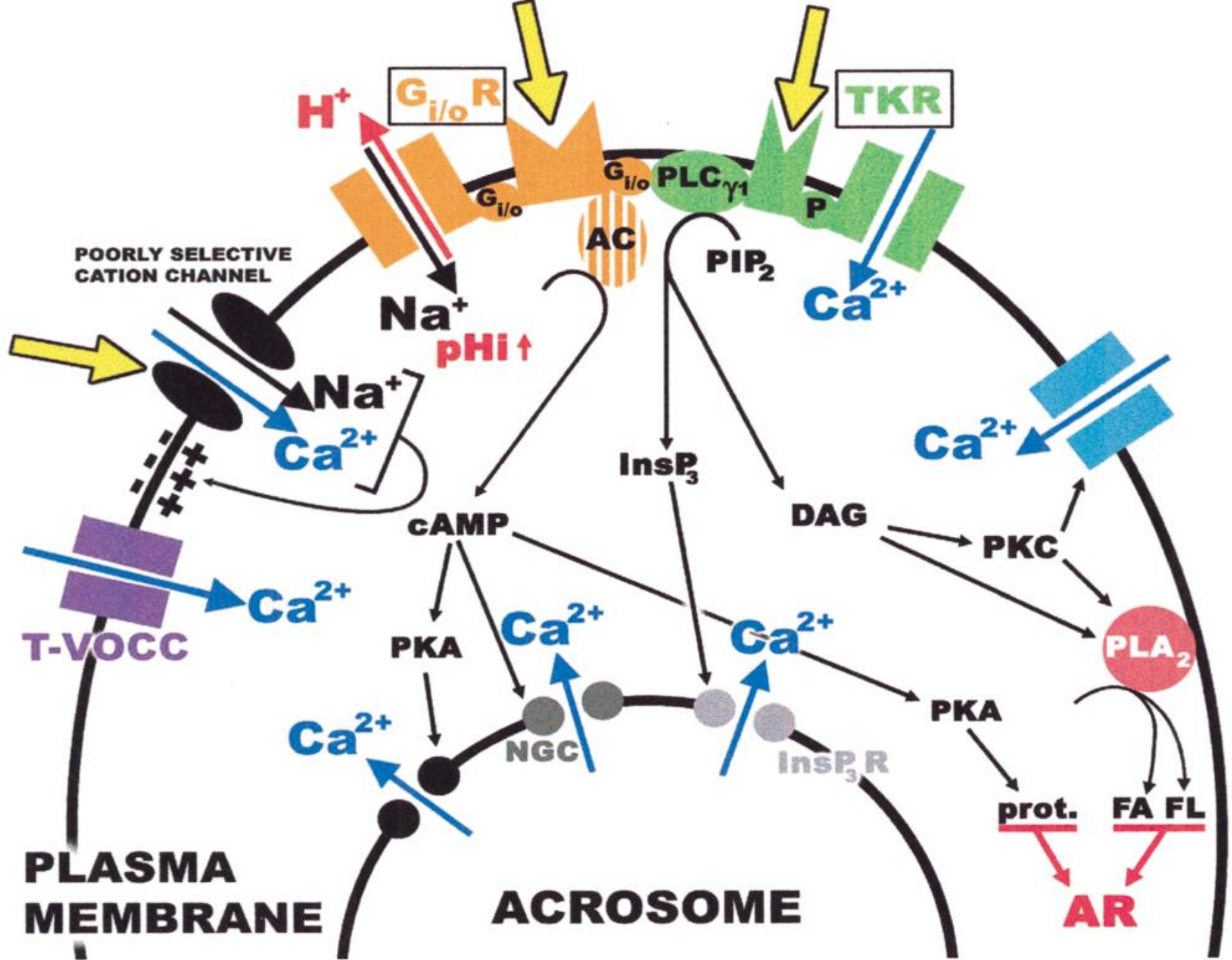
CORONA (oder CUMULUS) -PENETRATION

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.



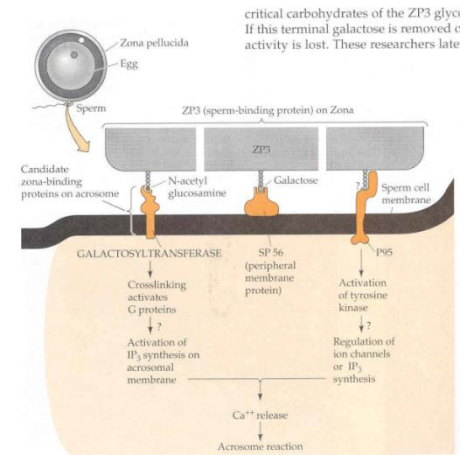
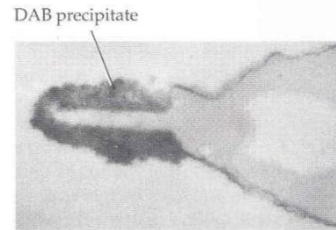
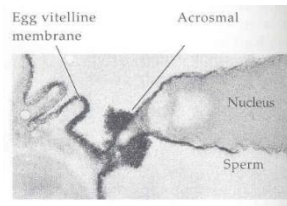
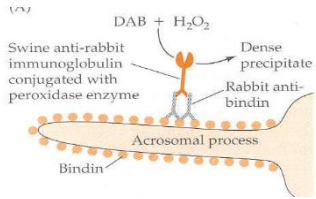


BEFRUCHTUNG

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**)

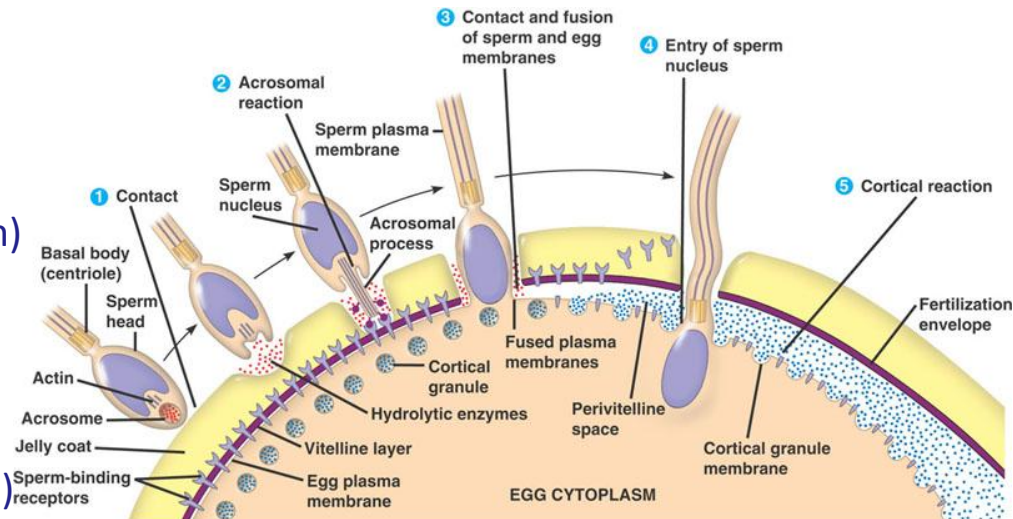
Mitochondrien dringen auch ein, aber werden sorgfältig **sequestriert** (phagosoma)

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

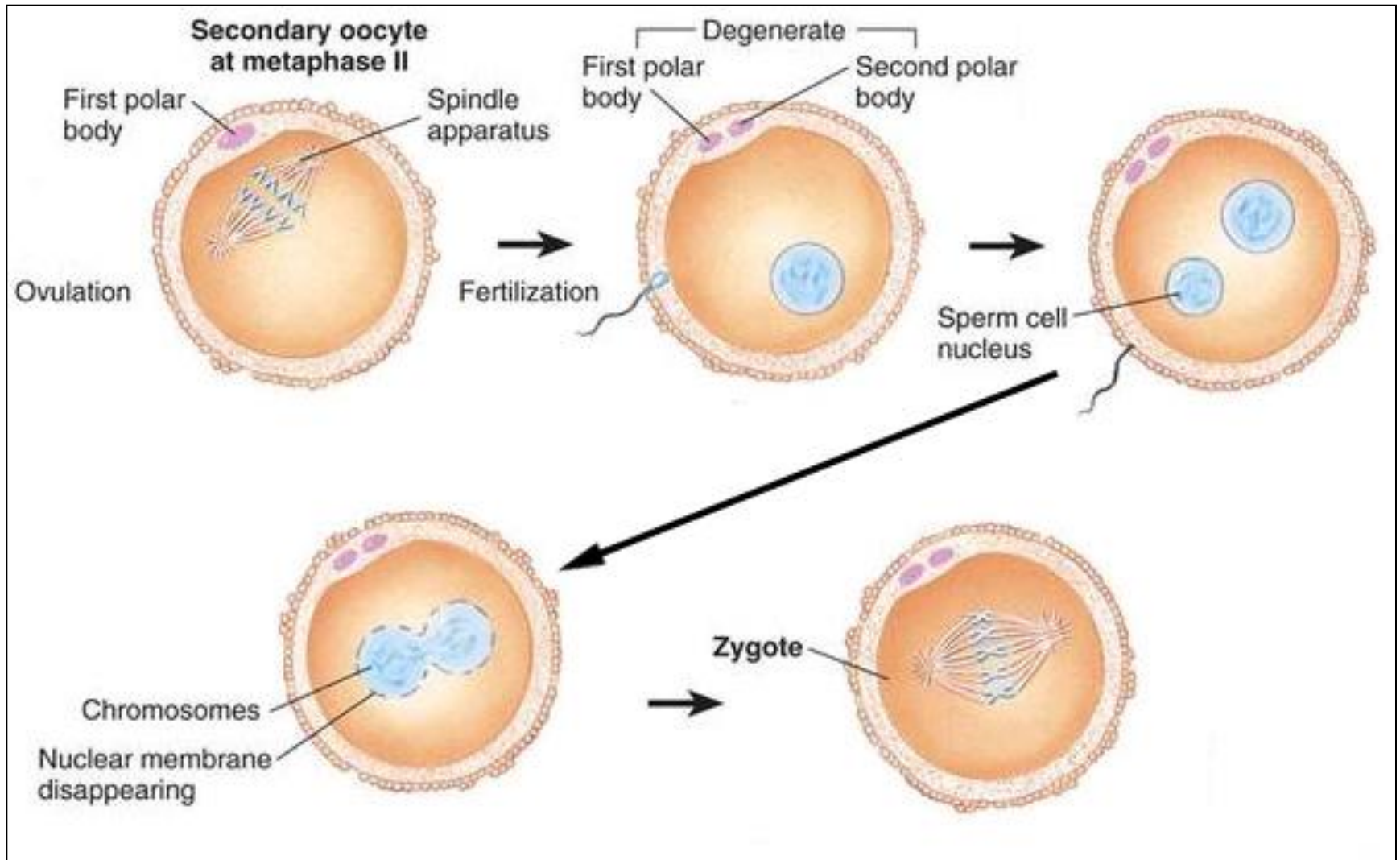
Osmotische Druck steigt

Die Perivitellinraum ist mit Flüssigkeit gefüllt

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



PREEMBRYO EMBRYO (ZYGOTE)



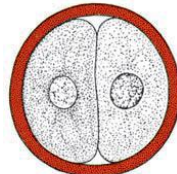
FURCHUNG

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

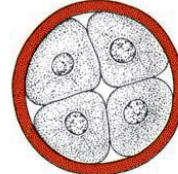
1,5 - 3 Tagen post-ovulation

Mitotische Zellteilung

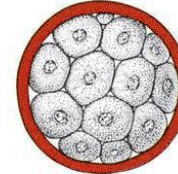
0.1 - 0.2 mm



Two-cell stage



Four-cell stage

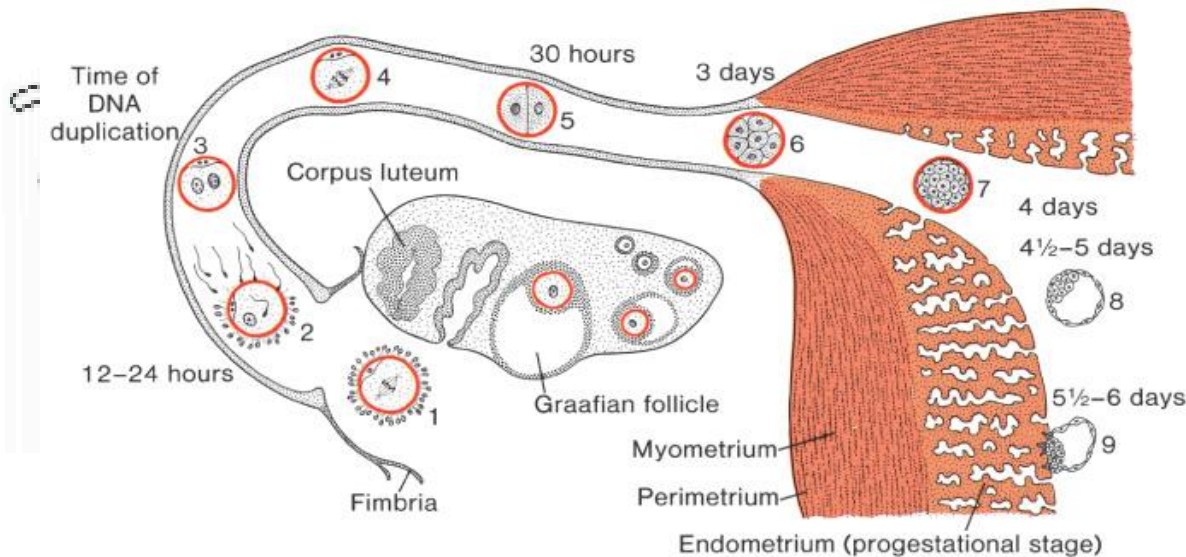
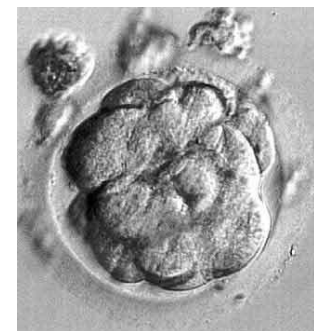
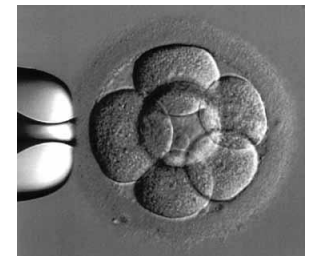
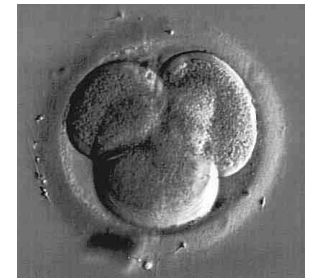


Morula



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

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

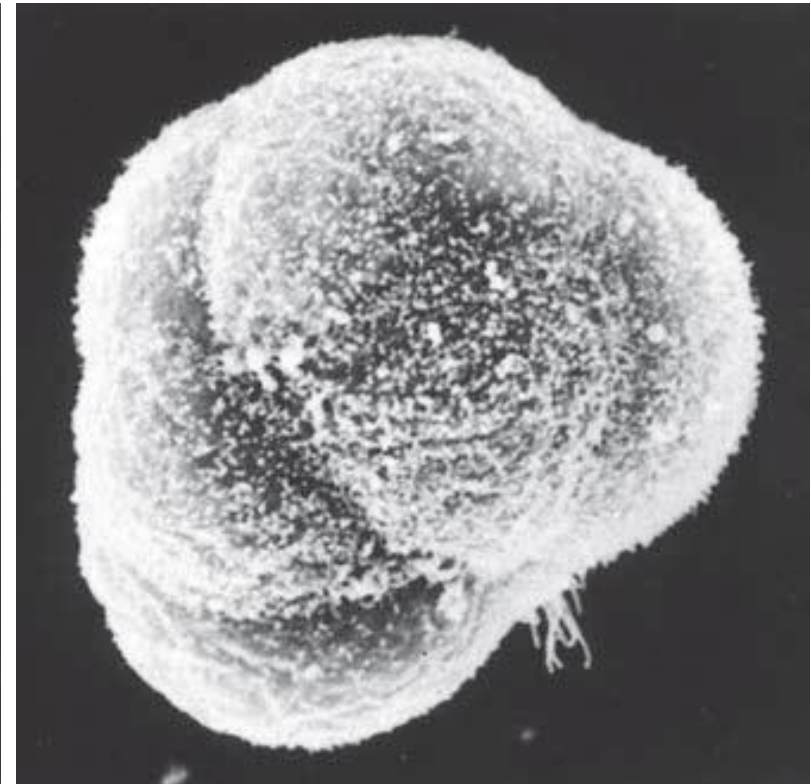
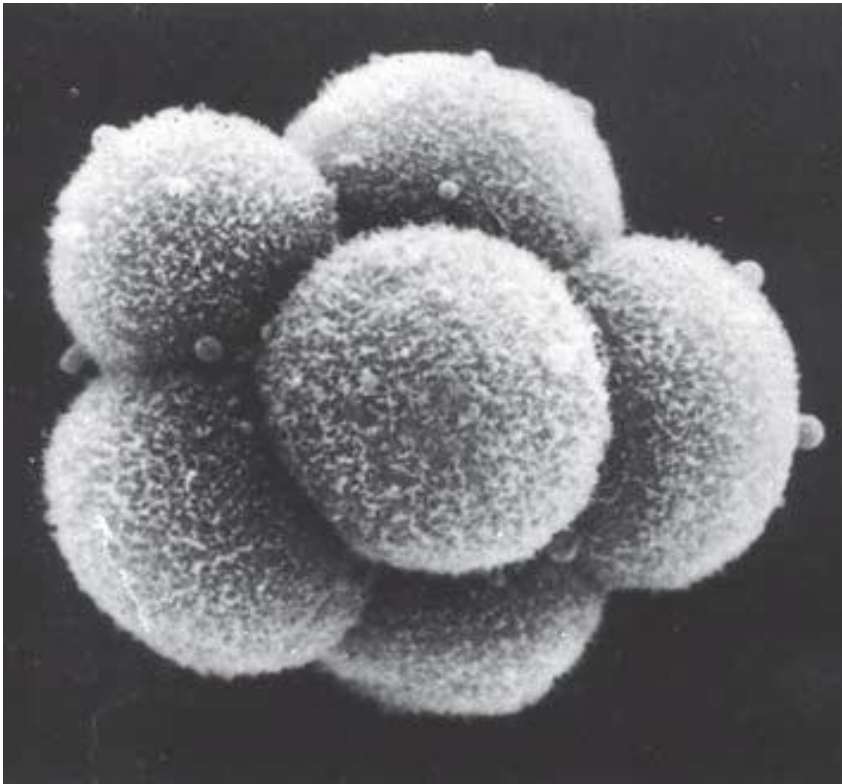


MORULA

COMPACTATIO

Vorher

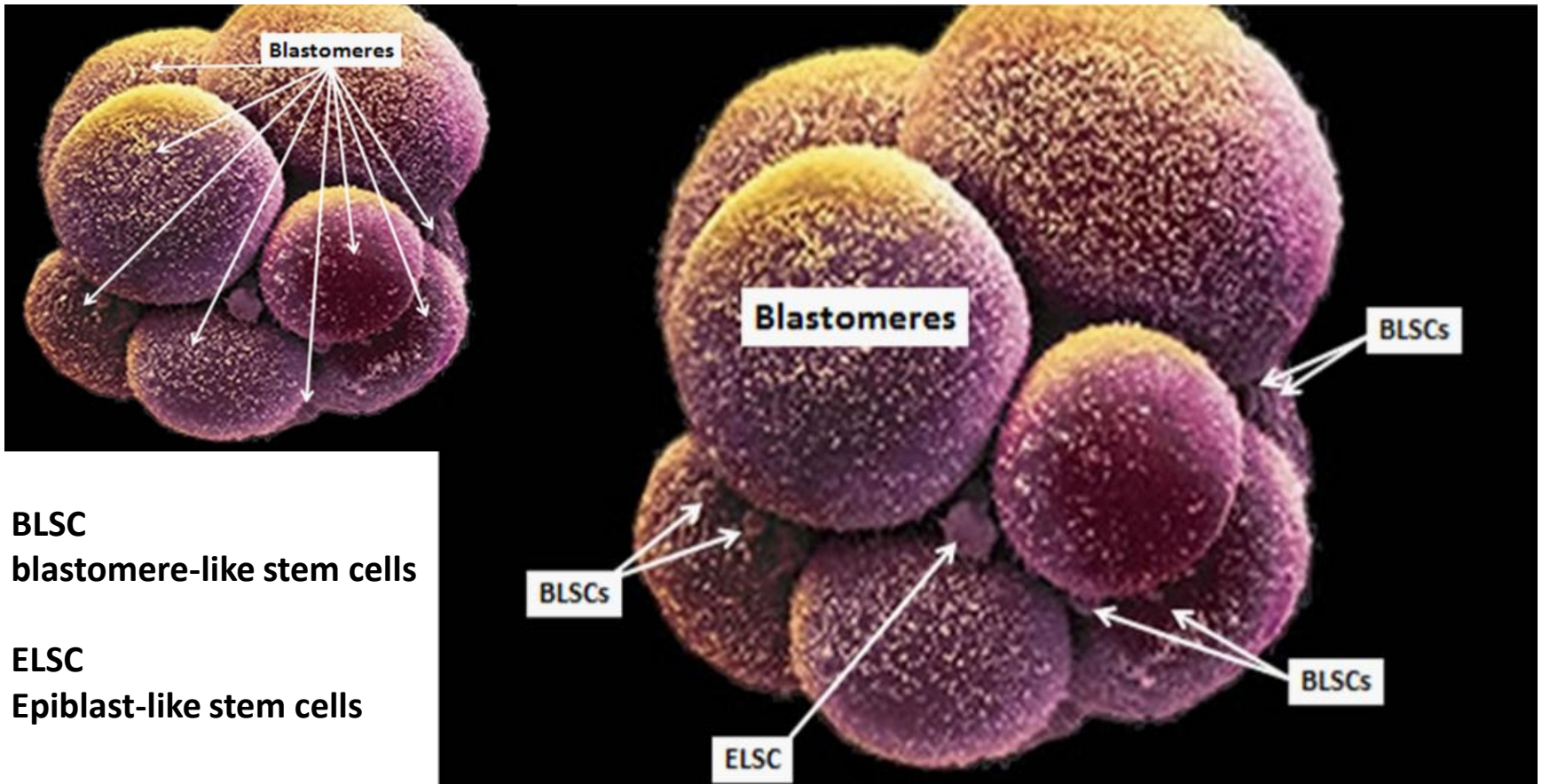
Nachher



Anzahl von Zellen: 60-120

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

DIFFERENZIERUNG, STAMMZELLEN



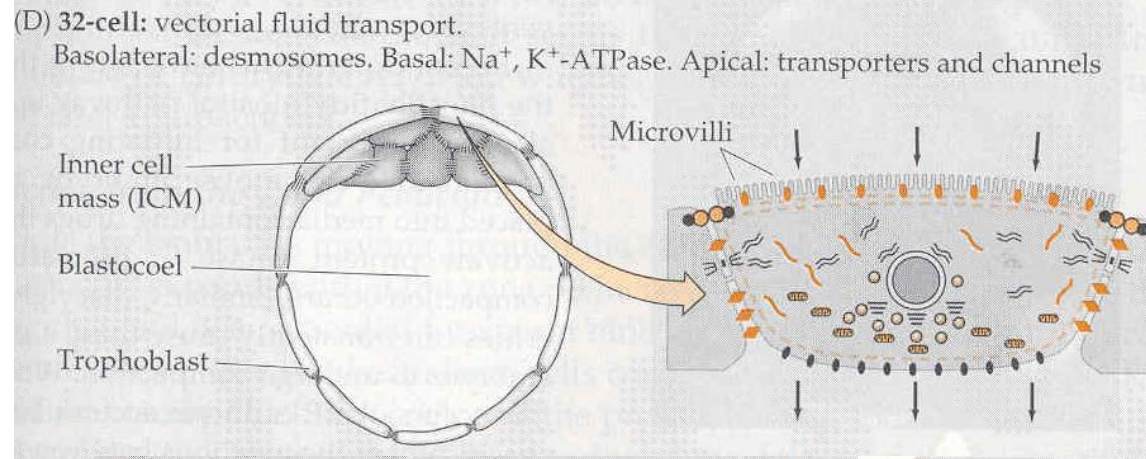
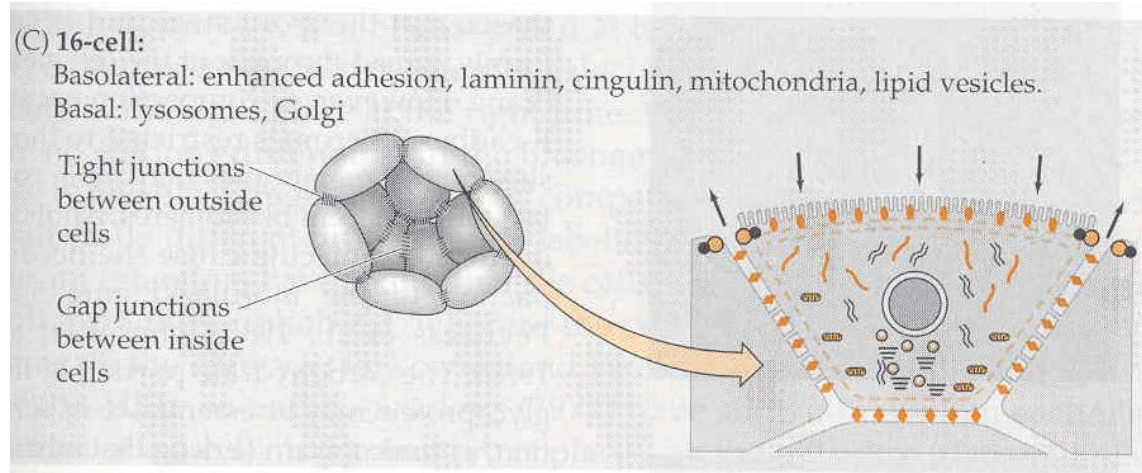
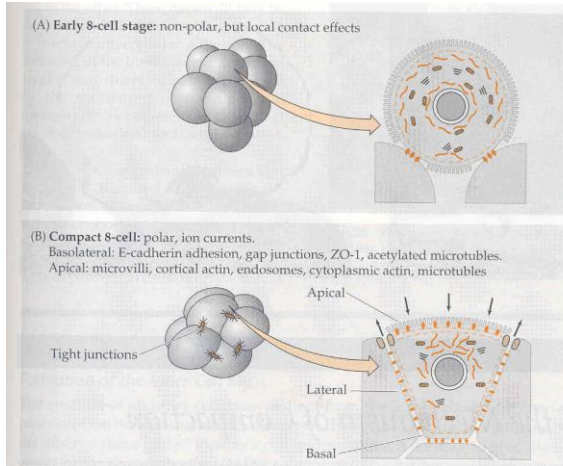
BLSC
blastomere-like stem cells

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

Na^+ Ionkanäle und Pumpen

Innere Schicht

EMBRYOBLAST

◆ E-cadherin	≡ Desmosomes	⦶ Tight junction (ZO-1)
↓ Ion current direction	○ Secondary lysosomes	●● (ZO-1)+cingulin
● Na^+ , 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

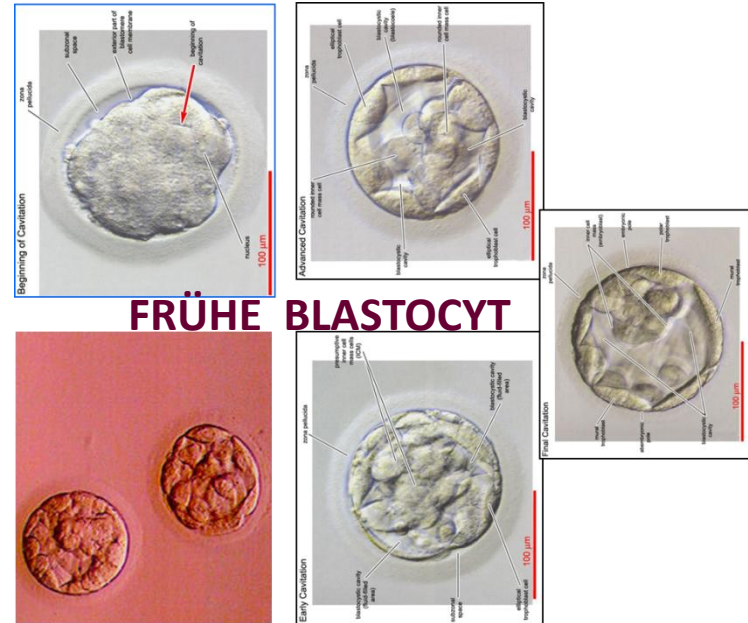
0.1 - 0.2 mm

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*)

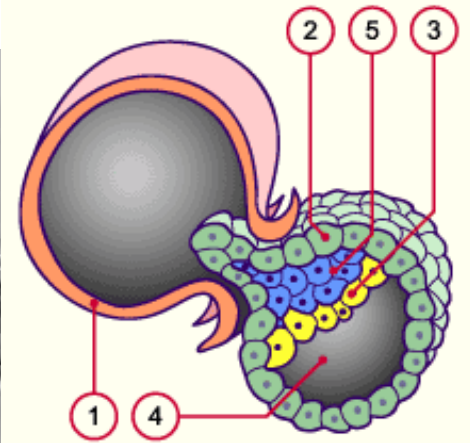
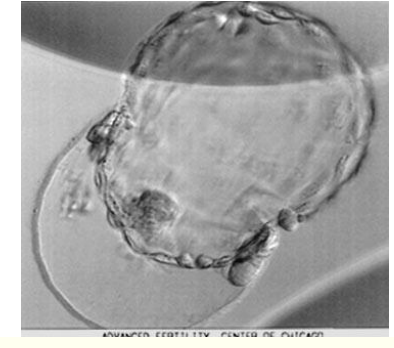
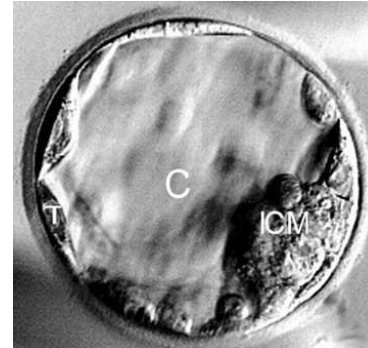
APPOSITION

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

hCG, progesteron release steigt
positiver Schwangerschaftstest

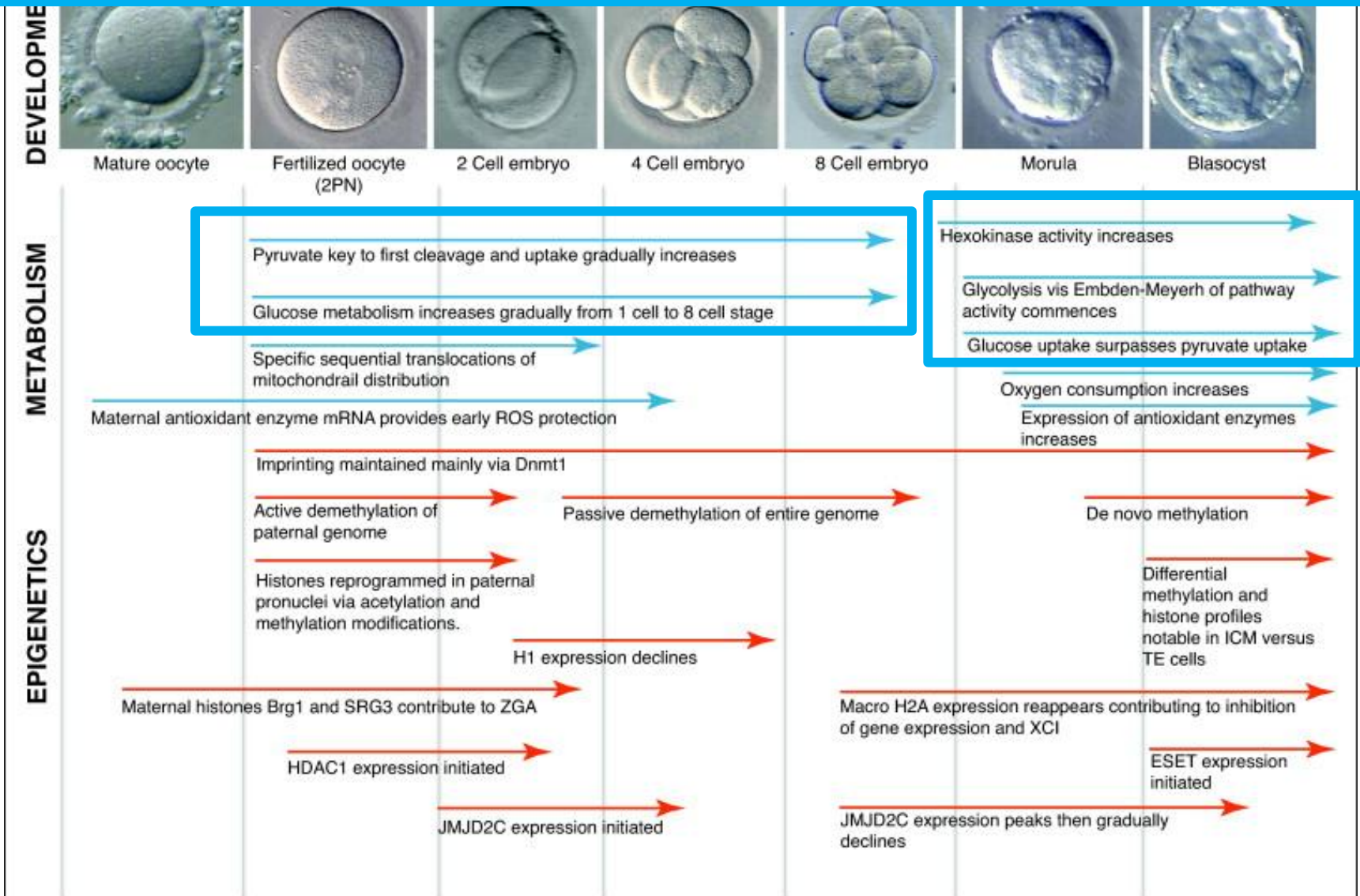
ENDOMETRIUM

Drüsenproliferation, Schwellung
Gefäßenproliferation



WIE IST DIE ZYGOTE GEFÜTTERT?

Erst PYRUVAT - dann ZUCKER



EMBRYONALENTWICKLUNG

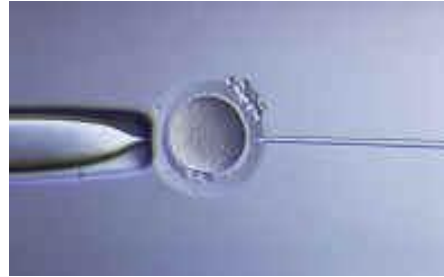
3-5. Tage

- 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)

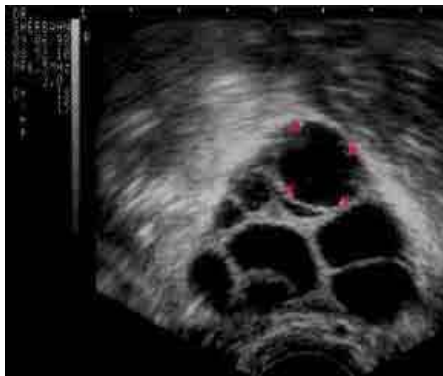
IN VITRO FERTILIZATION



ICSI – „intracytoplasmic sperm injection“



Ovarielle Stimulation



Embryobiopsie



„assisted hatching“



Ultraschall geführte
Oozytenabsaugung

DANKE SCHÖN FÜR IHRE AUFMERKSAMKEIT!

