

# KAPASİTASYON

Çiftlik Hayvanlarında Yapay  
Tohumlama

Prof. Dr. Fatin CEDDEN

# Giriş

Sıçanlarda 1951 yılında yapılan ilk çalışmalarda dişinin uterusunda 10-12 saat geçirmediğe, spermatozoanın dölleme kabiliyetini kazanamadığı ortaya konmuştur.

# Kapasitasyonun aşamaları

- Spermatozoa membranında ikinci aşamanın başlamasını sağlayan değişimlerin gerçekleşmesi
- Akrozomal ve plazma membranındaki birleşme. Bu aşamaya akrozom reaksiyonu adı da verilir

Tüm omurgalı ve omurgasız hayvanlarda akrozom reaksiyonu görülür. Ancak “KAPASİTASYON” memeli hayvanlara özgü bir olgudur.

- Kapasitasyon sürecinin tam olarak nerede başladığı bilinmese de uterusda hız kazandığı daha sonra ise tuba uterina da tamamlandığı bilinmektedir
- Kızgınlığın başında isthmus bölgesinde:
  - ineklerde 18-20 saat
  - koyunda 17-18 saat
  - domuzda 36 saat spermatozoa kalabilir ve dölleme sağlayabilir

Kapasitasyon sonunda spermatozoa daha hassas bir yapı kazanmış olur. Bu sürecin sonunda eğer ortamda yeterli miktarda spermatozoa mevcutsa, yumurtayı dölleme kabiliyetleri de en yüksek düzeydedir.

Estrus safhasındaki koyunların uterus içeriği kapasitasyon ve akrozom reaksiyonu için uygun ortamı sağlar. Lüteal fazda ise bu mümkün değildir.

Hamsterlerde tuba uterina da kapasitasyon sağlanabilirken, dışarıdan yapılan progesteron uygulamaları kapasitasyonu engellemektedir.

Kapasitasyonun moleküler düzeydeki ayrıntıları tam olarak bilinmese de, bu süreci *akrozom* reaksiyonunu başlatmak için gerekli plazma membran duyarlılığının artırılması için gerekli değişim olarak tarif edebiliriz

# Kapasitasyonun ilk aşaması

- Epididimis ve seminal plazma kökenli proteinlerin sperm plazmasından uzaklaştırılması
- Kapasitasyonunu tamamlamış spermaya yeniden seminal plazma sıvısı eklenirse kazanılan kapasitasyon kabiliyeti kaybedilir.

## Kapasitasyon sırasında gerçekleştiği bilinen olaylar

- Kapasitasyonun sonunda spermatozoidlerde kolesterol ve fosfolipid miktarı dūřer
- Metabolizma,
- cAMP ve
- İyon içeriği deđiřir
- Hareketlilik kapasitasyon sonunda en dūřük dūzeydedir



- Kalmodüline bağı protein fosforilasyonunun yavaşlaması
- Adenil siklaz ve fosfodiesteraz enzim aktivitelerinin c AMP düzeyini artırıcı yönde değişimi
- Bütün bu sıralananlar kapasitasyon döneminin bilinen aktiviteleridir

# Akrozom reaksiyonu

- Spermatozoa plazma membranı ile akrozomun dış membranının eriyerek birleşmesidir.
- Akrozom içeriği daha sonra hücre dışıyla temasa geçer
- Bu spermatozoide Zona pellusida yönünde hareketi sağlar

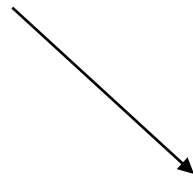
Akrozom reaksiyonu kapasitasyonu tamamlayan spermatozoide Z. Pellucida' yı delebilmek yeteneğini de kazandırır.

Bazı türlerde ise kümülüs hücrelerinin geçişi sırasında bu özellik kazanılır.

Zona pellucida'nın geçilebilmesi için mutlaka akrozom reaksiyonu gereklidir. Yaşlanan spermatozoid bu özelliğini kaybeder.

Akrozom reaksiyonu  $\text{Ca}^{++}$  ile yakından ilişkilidir.

$\text{Ca}^{++}$  alımı



Fosfolipazların aktive olması



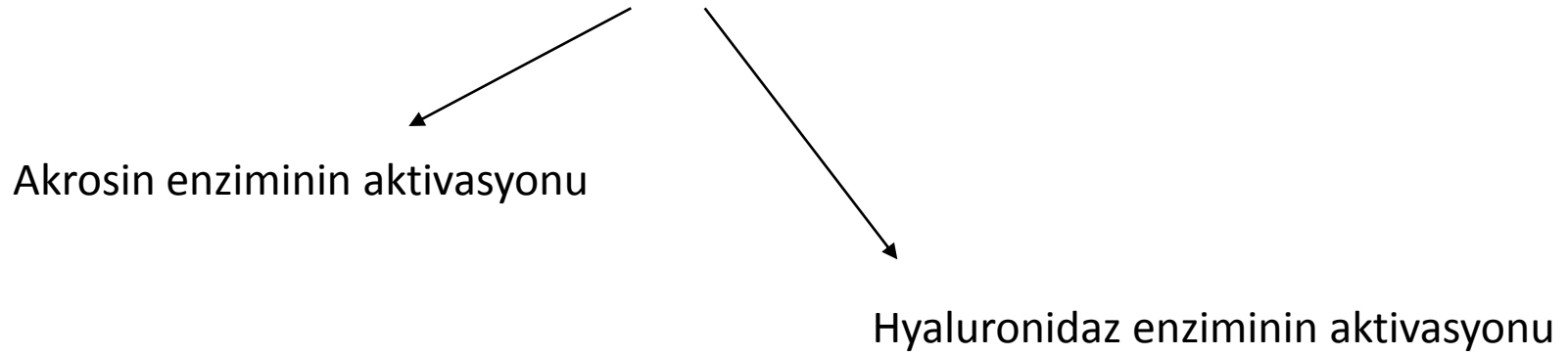
Lyso fosfolipid artışı



Reaksiyon sonuna doğru hücre plazmasına büyük miktarda  $\text{Ca}^{++}$  girişi

- Bunun sonucunda oocyt arasında fosfolipid köprüleri oluşur.
- Bu olaylar bir kez gerçekleşir ve tüm bu olaylar yaşanırken oocyte ZP'sı geçilmez ise spermatozoid in oocyt'e girmesi mümkün olmaz.
- ZP içindeki glikoproteinler spermatozoide bağlanmak suretiyle akrozom reaksiyonunu başlatırlar

# Akrozom reaksiyonu



- Akrosin enziminin salınımı bloke edilirse oocyt ZP'sı geçilemez.
- Oocyte etrafındaki kümülüs hücreleri hyalüronidaz enzimi etkisiyle ortaya çıkan hyaluronik asit etkisiyle dağılırlar
- ZP'nın geçilmesinden sonra oocyte'in vitellin zarının eritilmesinde akrozom reaksiyonu rol oynar. Yine de hyaluronidaz enziminin döllemedeki rolu tam bilinmemektedir.

- Spermatozoid ZP'yı geçtikten sonra perivitellin boşluğuna ulaşır ve burada vitellus zarı üzerine yerleşir.
- Spermatozoid ve vitellus zarının temas ettiği yerde kıvrımlı mikrovilluslar meydana gelir
- Spermatozoid in plazma zarı ile mikrovilluslar birleşir.
- Spermatozoa nın post akrozomal bölgesi ve ekvatorial boğumu birleşir.



- Bu olaylar ikinci mayoz bölünmenin metafaz safhasında duraklamış olan ovumda bölünmenin tamamlanmasını sağlar.
- Ovum'un bölünmesinde hyaluronidaz'ın rolü olduğu tahmin edilmektedir.
- Spermatozoid membranı baştan kuyruğa kadar vitellüs zarıyla kaynaşır. Spermatozoid vitellüs a membransız olarak girer.

- Vitellus'a giriş tamamlandığında nükleus membranı parçalanır. Erkeğe ait kromatinlerin etrafı vitellus kökenli bir zarla örtülür. Buna erkek pronükleusu denir.
- Mitokondrium ve sentriol halkaları, ayrıca kuyruk yapıları da vitellus içine dağılır.
- Mayozun devam etmesiyle ikinci kutup hücresi (polar body) vitellus dışına atılır.

- Dişi pronukleusu da oluştuktan sonra erkeğe ait pronukleusla beraber vitellus merkezine doğru göç ederler.
- En sonunda pronukleus membranlarının erimesi ve dişi ile erkeğe ait kromozom gruplarının belirmesi gerçekleşir.
- Daha sonra kromozomların birleşmesi ve membranla çevrilmesi gerçekleşir.
- Böylece fekondasyon tamamlanır.

# Spermatogenesis

- Fötal yaşam esnasında primordial germ hücreleri mezoderimde ilk kez ortaya çıkar. Bu hücreler daha sonra gonad çıkıntısı adı verilen yapıya göç eder ve burayı istila ederler.
- Burada mitoz bölünme ile çoğalırlar ve etrafları sertoli hücreleri ile çevrilirler. Bu hücre bölünmesi daha sonra ergenlik çağına kadar bir duraklama dönemine girer.
- Bu arada tubuli seminiferi kontorti kanallarında sertoli hücrelerinin arasına yerleşirler. Bundan sonra bu hücrelere spermatogonia adı verilir.

- Bu hücrelerin bazıları bölünmeksizin ya da çok az bölünerek kalır. Bunlara  $A_0$  veya  $A_5$  denir. Diğerleri bölünerek  $A_1, A_2, A_3, I_n$ (intermediate),  $B_1, B_2$  gibi spermatogonialara dönüşür.
- Hücre çekirdeklerinin görünümüne göre bu ayırım yapılır. Bu safhadan sonra mayoz bölünmenin profaz safhası meydana gelir. Bu safhadaki spermatozoid e primer spermatosit denir. Mayoz bölünmenin tamamlanmasıyla sekonder spermatositler oluşur.
- Ardından “n” kromozomlu spermatidlere dönüşüm gerçekleşir. Spermatidler 15 günlük bir süreçte spermatozoa'ya dönüşür.

# Spermiogenesis

- Bu işlem haploid yapıdaki spermatidlerin spermatozoa ya dönüşümünü kapsar. Bunun için pek çok işlem gerçekleşir: Nükleustaki kromatin yoğunlaşır.
- Golgi aygıtı nükleus dışında akrozomu oluşturur. Spermatozoid kuyruğu sentriolden meydana gelir.
- Nükleusun kaudal kutbundan manchette meydana gelir.
- Koçlarda spermatozoidin formasyonu için 15 ara aşama gözlemlenmiştir.

- Sertoli hücreleri spermatogenesiste önemli görevler alır.
- Germ hücreleri mayotik profaz safhasına girdiklerinde sertoli hücrelerinin stoplazması ile Tubulu seminiferi kontortinin peritübüler dokusu birbirinden ayrılır.
- Sertoli hücrelerinden daha yaşlı olan spermatidler ayrılırken genç olanları sertoli hücrelerinin içine doğru hareket ederler. Buradaki kriplere tutunarak gelişimleri devam eder.

# Kan – testis bariyeri

- Tubuli seminiferi contorti kanalının içindeki sıvı, kan plazması ve lenf sıvısından farklıdır.
- Kan ve lenf sıvısı bir bariyer ile bu kanalın içine karışmaktan alıkonulur. Bu bariyer sertoli hücrelerinden köken alır.
- Çok genç hayvanlarda kan-testis bariyeri yoktur. Sıçanlarda doğumdan 16-18 gün sonra ortaya çıkar.
- Kan-testis bariyeri mayoz bölünme için gerekli ortamı sağlar. Temel işlevi ise vücudun savunma sistemine karşı izolasyon oluşturmaktır.
- Spermatozidler mayozun pakiten safhasından sonra savunma sistemi tarafından yabancı hücre olarak algılanırlar.



# Spermatogenesis ve germ hücresi dejenerasyonu

- Koçlarda teorik olarak her  $A_1$  spermatogoniumu 256 adet spermatozoa oluşturur.
- Ancak, pratikte bu hiçbir zaman mümkün olmaz. Çünkü bazıları dejenere olur. Bu durumda üretilen spermatozoa sayısı azalır.

- Spermatozoa üretiminin artması ancak başlangıçtaki  $A_1$  spermatogonia sayısını artırarak mümkün olur.
- Çoğu evcil hayvan için günlük sperma üretimi testisin her gram olarak ağırlığı başına  $20 \times 10^6$  spermatozoid olarak hesaplanabilir.

- Testisler normal vücut sıcaklığı ve üzerinde tutulduklarında olumsuz etkilenirler.
- Testisler karın boşluğuna tam olarak inemez ise criptorchism ortaya çıkar
- Criptorchid testisler yapay olarak soğutulmazlarsa asla spermatogenesis'e izin vermezler

- Buna karşılık criptorchid bireylerde androjen üretimi erkeğe ait sekonder eşey ıralarının ortaya çıkmasına izin verecek düzeydedir.
- Bu durum aygır, domuz ve köpekte görülebilirken, sığır ve koyunda çok seyrek ortaya çıkar.
- Koçlarda 42° C çevre sıcaklığının 6 saatlik peryodlarda sürmesi geçici kısırlığa yol açmaktadır. Yüksek sıcaklık koçlarda anormal spermatogenesisise yol açar.
- Soğuk testisler için fazla tehlike oluşturmaz.

- X ve  $\delta$  ışınları bölünmekte olan spermatogonia yı öldürür.
- Beslenme yetersizliği testis boyutlarının küçük olmasına yol açar. Bu hal genel cüsse küçüklüğünden daha bariz olarak görülür.
- A vitamini retinol üretimi yanında tubuli seminiferi contorti için de gereklidir.
- E vitamini eksikliği sıçanlarda testis deformasyonuna yol açsa da bu durum diğer çiftlik hayvanlarında görülmez. Ancak gonad uyarıcı hormon üretimi açısından önemlidir.

- Zn eksikliği koçlarda kısırlığa neden olabilmektedir.
- Bazı kimyasal maddeler de spermatogenesis i etkiler:

“Diklorobromopropan” (testislerin atrofiye olması)

Gossypol (kan geçirgenliğini artırıcı etki)

Kadmiyum

- Sperma kordonunun burulması veya kimi yaralanmalar immünolojik reaksiyon başlatır.
- Kalıtımla geçen kongenital anomaliler yetersiz testis gelişimine neden olabilir.

# Spermin fertilizasyona hazırlanması

Olgunlaşmış bir yumurta hücrenin döllenmesi için spermatozoa yaşamında 5 önemli olayın gerçekleşmesi gerekir:

- 1) Epididimiste olgunlaşma
- 2) Hücre membranına dekapasitasyon faktörlerinin eklenmesi
- 3) Ejakülasyon sonrası dişi genital kanalında sperm transportu
- 4) Kapasitasyon
- 5) Akrozom reaksiyonu



# Epididimiste olgunlaşma

- İlk olgunlaşma burada olur. 10-15 günlük süreçte hücre membranındaki proteinlerin ortaya çıkması ve kaybolması gerçekleşir.
- Spermatozoa spermatogenesis boyunca tüm protein içeriklerini kaybederler.Yeni proteinler çevreden aktarılır.Bunun kaynağı epididimistir.
- Plazma membranındaki bu değişimler spermatozoa ya hareket ve ZP'ye yapışma yeteneği kazandırır.

# Dekapasitasyon faktörlerinin absorpsiyonu

- Ejakülasyona kadar spermatozoa epididimis içindeki besleyici ortamda barınır. Kapasitasyon ve akrozom reaksiyonları gibi olgular spermatozoid membranında stabilizasyonu bozar.
- Eğer spermatozoa oocyte i çevrelememiş ise ölür. Bu nedenle bazı stabilize edici maddeler spermatozoa yüzeyi tarafından emilir.
- Bu maddelere **dekapasitasyon faktörleri** adı verilir. Bu faktörler plazma membranını stabilize eder ve erken kapasitasyon sonucu spermatozoa ölümünü engeller.

# Bilinen Dekapasitasyon faktörleri

- Glikoproteinler
- Steroller
- lipidler

- Deneysel olarak boğalarda kauda epididimisten alınan spema in vitro koşullarda kapasitasyona maruz bırakılınca, ZP'yi geçebilmesi için gerekli akrozom reaksiyonunu seminal plazma ile kazanabilmektedir.
- Sonuç olarak, seminal plazmadan absorbe edilen proteinler akrozom reaksiyonunun başlatılabilmesi için gereklidir.