

Gametogeneze, mitóza a meióza

Prof. MUDr. Pavel Trávník, DrSc.

Buněčný cyklus

generační doba - trvání cyklu

interfáze - období mezi dvěma následnými mitózami

vlastní buněčné dělení - **mitóza**

regulace buněčného cyklu - **cykliny a CDK proteinkinázy**

Buněčný cyklus

G0 fáze - fáze, kdy se buňka již dále nedělí, **zastavení buněčného cyklu**. Setkáváme se u diferencovaných buněk. Kontrolní uzel na počátku G1 fáze - pokud se již buňka nemá dále dělit, vstoupí do G0 (nula) fáze, místo do G1 fáze. Některé buňky jsou schopny v případě potřeby přejít z G0 fáze do G1 fáze a začít se opět dělit.

G1 fáze - též postmitotická. Období růstu buňky, přípravná fáze na další dělení. Dochází zde ke **kontrole a opravám DNA**, před její budoucí replikací v následující fázi. **Trvá 10 - 12 hodin.**

S fáze - DNA se replikuje na dvojnásobné množství. Každý chromosom je od této doby **zdvojený**, tvořený párem **sesterských chromatid**. **Trvá 6 - 8 hodin.**

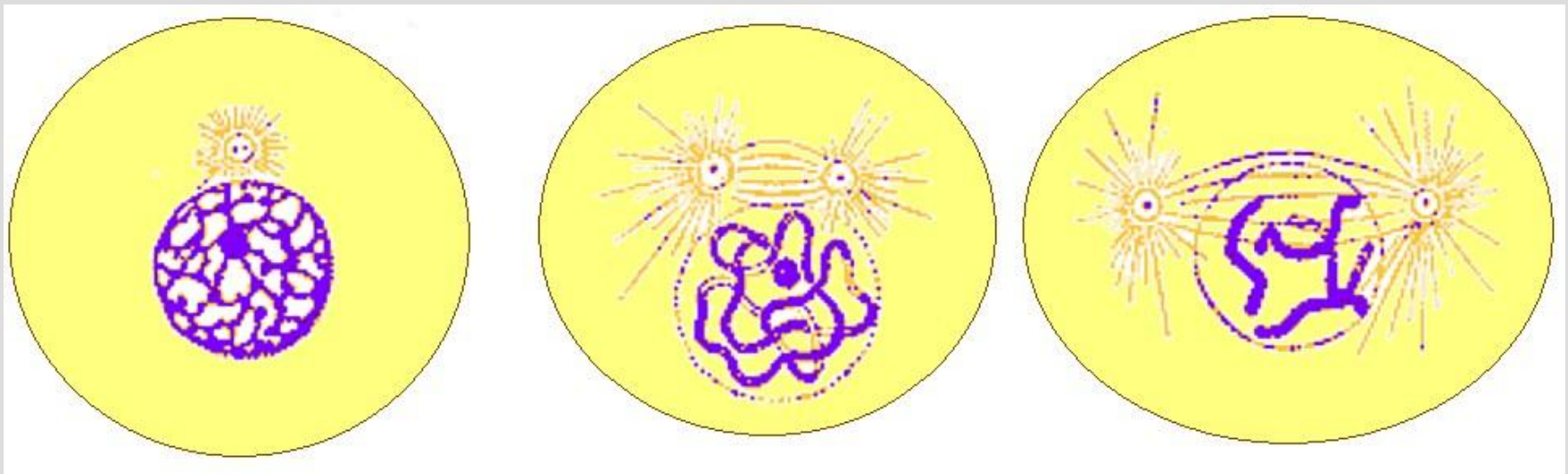
G2 fáze - zdvojování organel, tvorba struktur potřebných pro dělení buňky. **Trvá 2 - 4 hodiny.**

M fáze - Skládá se z jaderného dělení (**mitózy**) a vlastní **cytokineze** - viz níže. **Trvá 1 - 2 hodiny.**

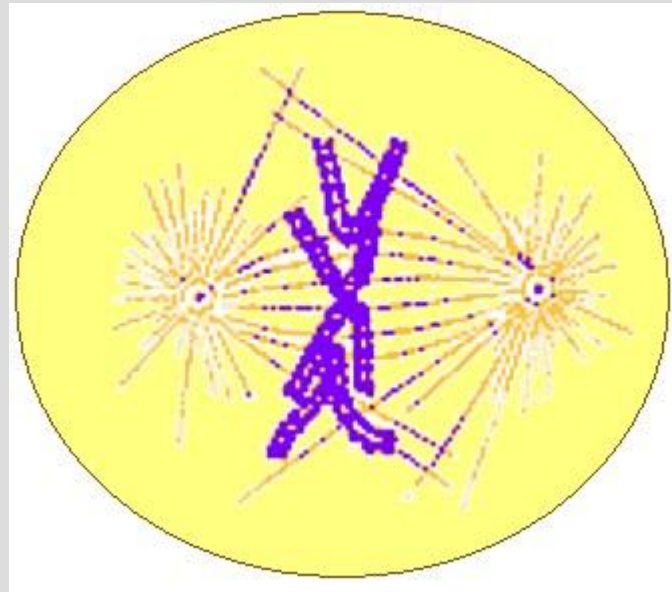
Mitóza

- **Profáze** - Rozpuštění jaderné membrány a jadérek, vznikají 2 **centrioly**, vzniká **dělicí vřeténko** (mikrofilamenta, mikrotubuly), z chromatinu vznikají pentlicovité chromosomy. Chromosomy jsou **zdvojené**, jsou ale stále **spojeny** v centroméře
- **Metafáze** - Chromosomy se seřazují do rovníkové (ekvatoriální) roviny. Dělicí vřeténko se navazuje na centromery chromosomů. Chromosomy zůstávají spojeny jen v centromerách. Charakteristická **metafázová destička**. Pokud buňka obsahuje dělicí vřeténko je již plně vyvinuto .
- **Anafáze** - Chromozómy jsou v oblasti centromer napojeny na vlákna vycházející z opačných pólů dělicího vřeténka. Rozpojení chromosomů v centromerách zkracováním mikrotubulů dělicího vřeténka. **Chromosomy putují k pólům buňky**.
- **Telofáze** - Zánik dělicího vřeténka, **dekondenzace** chromozómů, vzniká jaderná membrána a jadérka, počátek **cytokineze**.

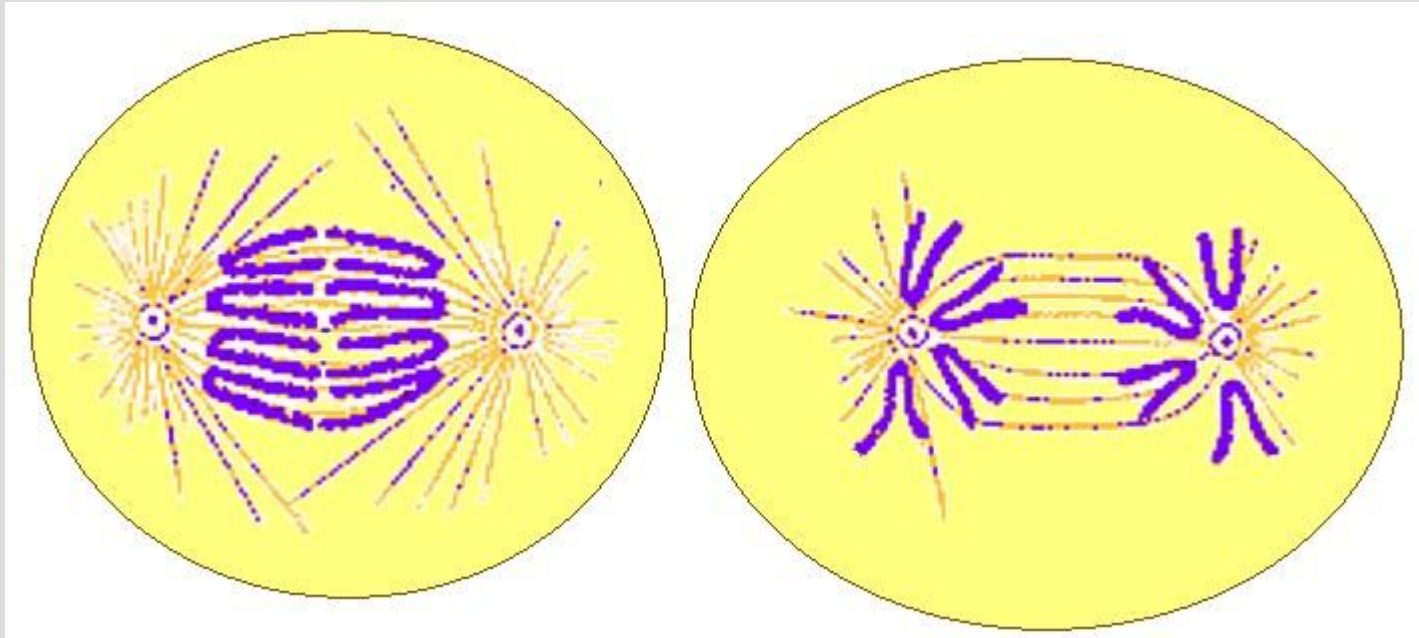
Profáze



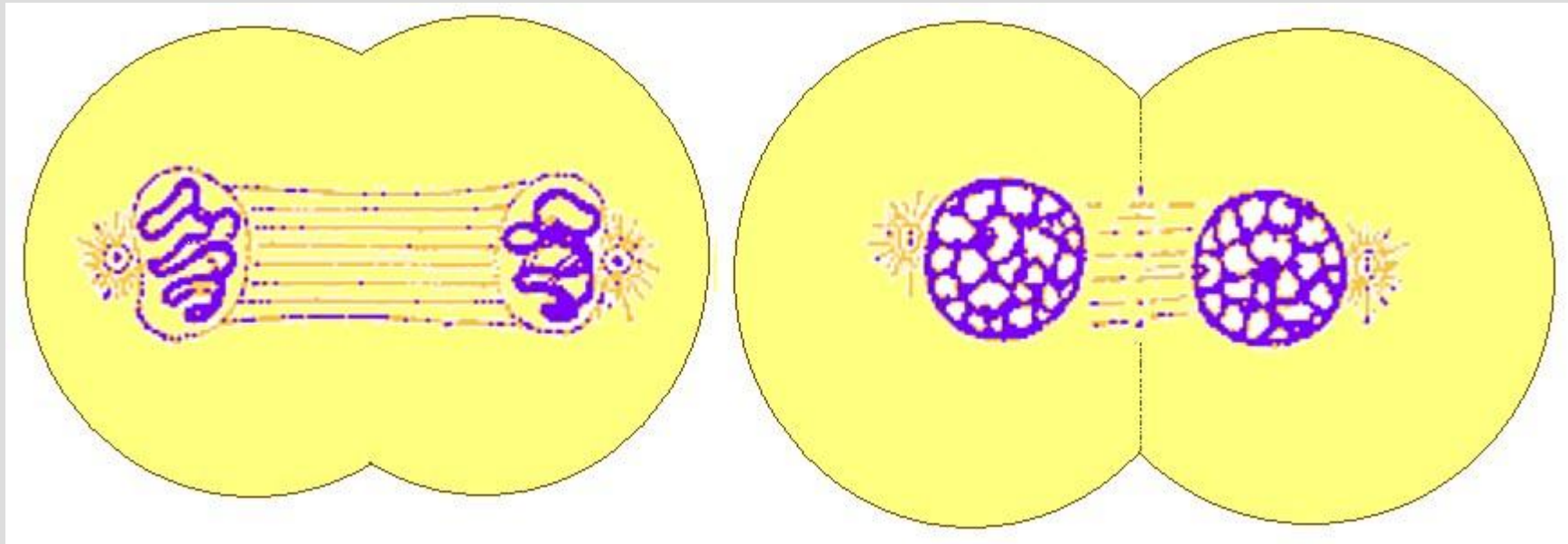
Metafáze



Anafáze

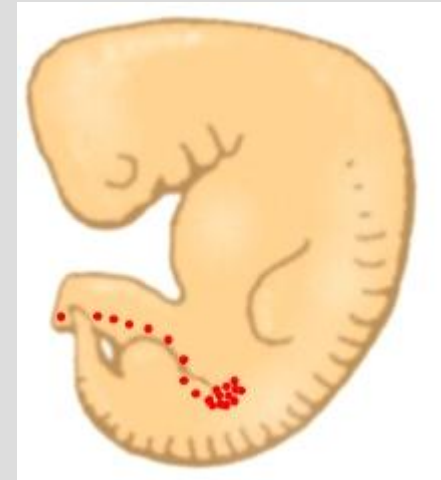


Telofáze



Cytologické a genetické aspekty

- Během organogeneze jedince vznikají základy pohlavní žlázy, které jsou kolonizovány **prvopohlavními buňkami**, které sem doputují ze základu žloutkového váčku přes dorzální mesenterium.
- Jestliže prvopohlavní buňky obsahují chromosom Y, indukují za fyziologických okolností přeměnu primitivní gonády ve varle, pokud ne, vzniká ovarium.



Embryonální varle

- V embryonálním varleti se prvopohlavní buňky stanou součástí semenotvorného epitelu stočených kanálků
- diferencují se ve **spermatogonie typu A**. To jsou typické diploidní buňky, ležící při bazální membráně stočených kanálků.
- až do puberty dochází jen k proliferaci spermatogonií, **nenastává meiotické zrání**.

Embryonální ovarium

- V embryonálním ovariu se prvopohlavní buňky diferencují nejprve v **oogonie**
- jejich dělením vznikají **oocyty prvního řádu**, které jsou obaleny jednou vrstvou folikulárních buněk a spolu s nimi tvoří primordiální folikul.
- Oocyt prvního řádu zastaví svůj vývoj v profázi prvního zracího dělení, v takzvaném **diplotenním stadiu**.
- **V tomto stádiu zůstávají oocyty až do puberty a potom dále až do okamžiku znovuzahájení meiózy.**

Meióza

- Meióza zajišťuje **konstantní počet chromosomů** (při oplození by se jejich počet zdvojnásoboval)
- Je důležitým zdrojem diverzity genomu (vedle mutací).
- Meióza je způsob buněčného dělení, při němž postupně probíhá 1. a 2. meiotické dělení (meióza I a meióza II).
- Před meiózou I proběhne S-fáze, takže celkové množství DNA je **4n**.
- Mezi meiotickými děleními již nedochází k S-fázi (chybí syntéza DNA) a jejím výsledkem jsou **4 buňky s haploidním počtem** (u člověka 23) chromosomů, každá z nich obsahuje bezprostředně po ukončení meiózy II **1n** množství DNA.

Dělení meiózy I

- Profáze I
- Prometafáze I
- Metafáze I
- Anafáze I
- Telofáze I
- Cytokinéza



Leptotenní

Zygotenní

Pachytenní

Diplotenní

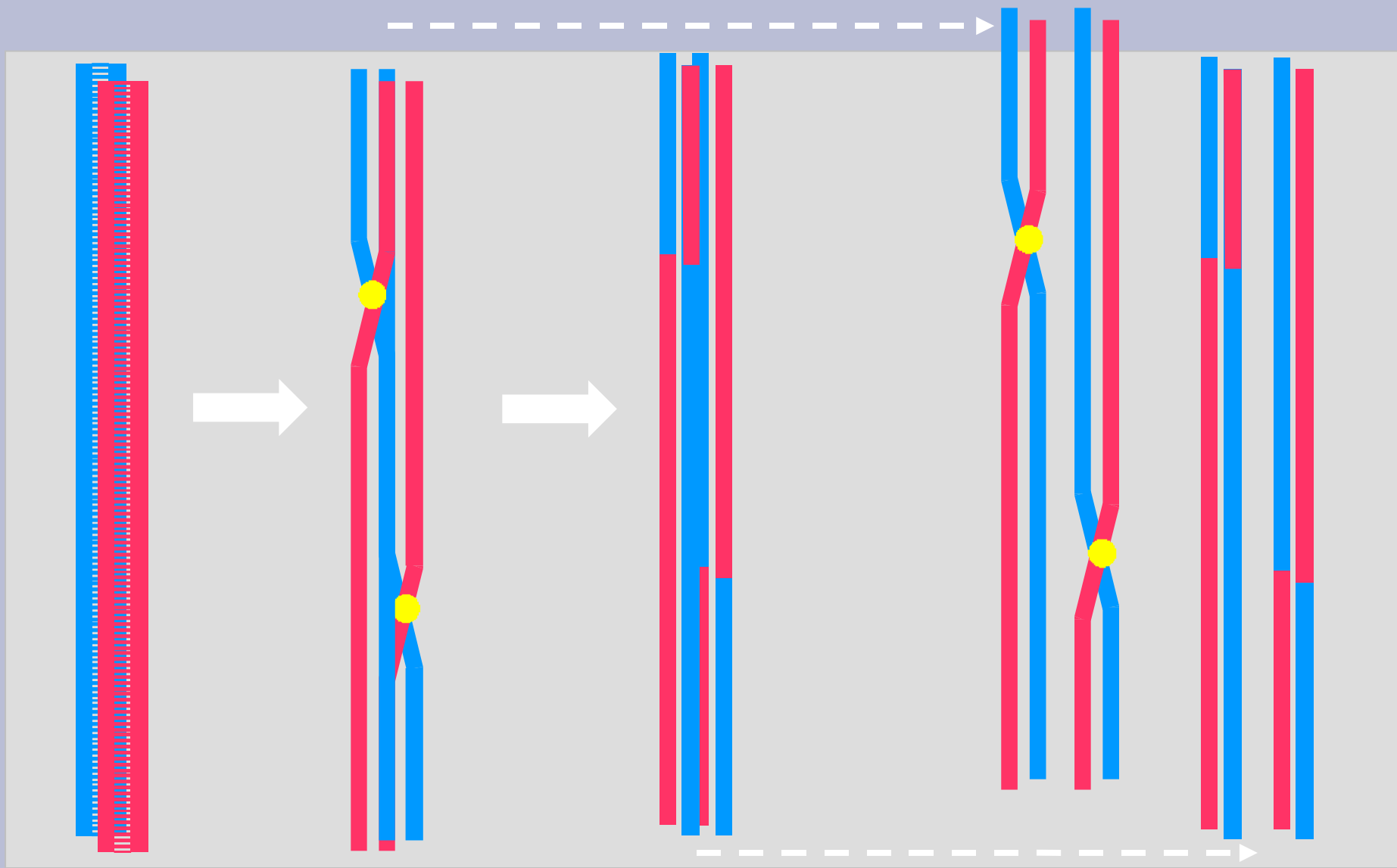
Profáze I

- Během profáze se homologní chromosomy párují a za účasti kohesinů formují **synaptonemální komplexy**, které spojují sesterské (pocházející od téhož rodiče) chromatidy, zatímco nesesterské chromatidy vytvářejí **chiasmata**.
- Párované chromosomy se nazývají bivalenty, každý obsahuje jeden chromosom otcovského a jeden mateřského původu a je složen ze **čtyř chromatid** (tetráda).

Stadia profáze I

- **Leptotenní** – dochází ke kondenzaci chromosomů a jejich párování.
- **Zygotenní** – formuje se synaptonemální komplex.
- **Pachytenní** – je ukončena synapse, objevují se rekombinační uzlíky, jeden nebo několik, reprezentující body crossing over. Obsahují enzymy potřebné pro rekombinaci a opravu DNA.
- **Diplotenní** – rekombinace DNA je hotová, synaptonemální komplex se začíná rozvolňovat.

Chromozómy v profázi



Další postup meiózy I

Prometafáze I

Zmizí jaderný obal, formují se kinetochory a připojují chromosomy k mikrotubulům dělicího vřeténka tak, aby se obě **sesterské chromatidy dostaly k jednomu pólu**.

Metafáze I

Bivalenty, každý složený ze dvou chromosomů (čtyř chromatid) vytvářejí metafázovou ploténku. Jejich orientace vzhledem k pólům dělicího vřeténka je náhodná, takže pravděpodobnost, že otcovský nebo mateřský chromosom přejde do jedné nebo druhé budoucí buňky je stejná.

Anafáze I

Kohesiny uvolní chiasmata, chiasmata se oddělí, chromosomy (**každý složený ze 2 sesterských chromatid – avšak změněných v důsledku c. o.**), se pohybují k opačným pólům

Telofáze I

Pokud jde o meiózu v průběhu spermatogenezy, zformuje se jaderný obal, u oogeneze přechází rovnou do meiózy II.

Cytokinéza

Je podobná mitóze, při spermatogeneze se vytvoří dvě rovnocenné buňky, při oogeneze oocyt II řádu a 1. pólocyt.

Výsledek meiózy I

- Výsledkem meiózy I jsou dvě buňky s haploidním počtem chromosomů
- Každý chromosom obsahuje dvě chromatidy.
- Chromatidy **nejsou rovnocenné**, protože došlo k výměně částí chromatid při crossing over.

Meióza II

- Cytokinéza **není následována S-fází** a následuje meióza II, která má obdobné fáze jako mitóza.
- V anafázi II se **oddělí sesterské chromatidy** a jako samostatné chromosomy putují v telofázi k opačným pólům dělicího vřeténka.
- Při meióze II vznikají z každé buňky dvě haploidní dceřinné, v nichž každý chromosom je složen z jedné chromatidy (obsah DNA je **1n**).
- Specifické pro oocyt je, že zůstává v metafázi II a buněčné dělení se dokončí až po oplození, metafáze II tedy trvá řadu hodin.

Genetická rekombinace

Je jedním z mechanismů zajišťujících diverzitu genomu.

Crossing-over - dochází k reciproké výměně úseků nesesterských chromatid a tím k nové vazbě genů, protože vyměněné úseky jsou sice identické, ale mohou nést rozdílné alely. Na jedné homologní dvojici somatických chromosomů může vzniknout až 20 překřížení, tedy až 20 vyměněných úseků na každém chromosomu (Wartenberg 1990).

Náhodná distribuce homologů – během meiózy I dochází k náhodné distribuci chromosomů mateřského a otcovského původu do dceřinných buněk. Vzhledem k haploidnímu počtu lidských chromosomů 23, vzniká tak $2^{23} = 8\,388\,608$ různých kombinací chromosomů.

K další diverzifikaci genomu dochází při oplození, kdy se kombinují **chromosomové sady dvou gamet**.

Z uvedeného vyplývá, že kromě identických dvojčat prakticky nemohou existovat dva lidé se shodným genomem.

Rekombinace u pohlavních chromosomů

Pohlavní chromosomy se chovají při meióze jinak, než somatické.

X-chromosomy nevytvářejí synaptonemální komplex, na jejich krátkých úsecích však mohou vznikat pseudoautozomální dráhy s výměnou kousků chromatid.

U mužské meiózy dochází k částečné synapsi mezi chromosomem X a Y s možnou translokací části chromosomu Y na chromosom X (Burgoyne 1982, McLaren 1988).

Meiotické chyby

- ⌘ Při velmi decentních procesech probíhajících během meiózy, vznikají zejména u meiózy I chyby, které jsou daleko **častější při oogenezi**, než při spermatogenezi.
- ⌘ Důsledkem **non-dosjunction** (nerozpojení) chromozómů jsou **aneuploidie**.
- ⌘ **Při meióze I** jedna výsledná buňka pak obsahuje dva chromozómy pocházející od různých rodičů, druhá je nulizomní. Při oplození první buňky pak vzniká trisomní zygota se třemi různými chromosomy. Při oplození druhé buňky vzniká monosomní zygota.
- ⌘ **Při meióze II** se v jedné buňce octnou dvě sesterské chromatidy a druhá je nulizomní. Při oplození první buňky vznikne zygota se dvěma podobnými (ne stejnými, protože došlo ke crossing-over) chromosomy a s jedním odlišným.
- ⌘ Důsledkem chybného crossing-over jsou i **delece, inverze a translokace**.

Oogeneze s časovým zařazením meiózy

- Prenatální vývoj oocytů

Od primordiální pohlavní buňky – gonocytu, přes oogonii až po oocyt I v zastavené meióze

- Postnatální vývoj oocytů

Folikulogeneze, pokračování meiózy I, začátek meiózy II

- Postovulační vývoj oocytů

Meióza II se dokončí v případě oplození

Prenatální vývoj oocytů

- Ve fetálním ovariu se odehrává podstatná část oogeneze, která je však ještě **před porodem přerušena** a oocyty zůstávají v blokováném stavu (Wartenberg 1990).
- Etapy oogeneze, které se odehrávají ve fetálním ovariu, to je proliferační fáze oogonií, vstup oocytů do profáze meiózy a tvorba primordiálního folikulu, absolvují pohlavní buňky **během několika dnů** (Wartenberg 1990).
- Primordiální pohlavní buňky nebyly v juvenilním ani dospělém ovariu nalezeny (Baker a Eastwood 1983).
- Proces formování folikulů je u člověka uzavřen před porodem a oocyty, které nevytvořily primordiální folikuly, v této době degenerují (Midgley a Sadler 1979).

Prenatální vývoj oocytů

- Primordiální pohlavní buňky byly poprvé popsány na začátku **3. týdne** vývoje embrya ve žloutkovém vajíčku, odkud v průběhu asi 14 dní putují cestou dorsálního mesenteria k základům pohlavních žláz.
- Ještě u embryí starých **6 týdnů** jsou aktivně améboidně pohyblivé a přeměňují se v oogonie, které jsou v této době přítomny v počtu kolem 26 000.
- Jejich množství vzroste na asi 250 000 v **9. týdnu** vývoje plodu kdy cestují nediferencované buňky do kůry vyvíjejícího se ovaria
- Ve **12. týdnu** tvoří oogonie skupiny synchronních mitóz. Vzniku oocytů tedy předchází vlna proliferace oogonií, která automaticky přechází do profáze meiózy. Liší se od ostatních mitóz rytmickým průběhem a silnou synchronizací. Oogonie zůstávají spojeny cytoplazmatickými můstky.
- Po ukončení proliferační fáze proběhne v oocytech poslední, premeiotická S-fáze.

Prenatální vývoj oocytů

- Ve **13. týdnu** jsou v kůře početné oocyty, které vstoupily do profáze meiózy.
- Na počátku **5. měsíce** se v kůře vytváří zóna obsahující skupiny oocytů, které vstoupily do tvorby folikulů. Meióza se přerušuje v diplotenní fázi, kdy jsou homologní chromosomy odděleny a jen v místech s chiasmaty zůstávají spojeny. Jádro vstupuje do klidového stadia a oocyt zformuje spolu s folikulárními buňkami po ukončení diplotenního stadia primordiální folikul.
- Mezi **6. - 7. měsícem** vývoje je primordiálními folikuly rovnoměrně obsazena celá kůra.
- Během proliferace oogonií a leptotenního a pachytenního stadia dochází k úbytku pohlavních buněk, jen část se stává součástí folikulů, k dalšímu poklesu počtu dochází do porodu, kdy zůstávají 1 až 2 miliony primordiálních folikulů.

Postnatální vývoj oocytů

- Také postnatálně až do puberty folikuly s oocyty zanikají a při dosažení pohlavní zralosti jich zbývá kolem **200 000** v každém ovariu.
- Folikulogeneze
- Atrézie - 99,9% folikulů zaniká atrézií. Principem atrézie je apoptóza. Před apoptózou chrání folikul FSH

Folikulogeneze

Folikulogeneze patří do postnatální fáze vývoje oocyty. Je založena na proliferaci buněk a cytodiferenciaci. Jde u ženy o dlouhý proces, který potřebuje asi **jeden rok**, aby se primordiální folikul vyvinul do ovulačního stadia. Skládá se z následujících složek:

nábor (recruitment) primordiálních folikulů

vývoj preantrálních folikulů

selekce a vývoj Graafova folikulu

atrécie folikulů

Nábor oocytů (Recruitment)

- Určitý počet primordiálních folikulů je rekrutován k růstu už brzo po jejich formování **u plodu**.
- Proces náboru pokračuje **až do vyčerpání zásoby** primordiálních folikulů v menopauze.
- Probíhá relativně konstatní rychlostí během prvních tří dekad života ženy, až dosáhne kolem 37 let hodnoty 25 000. Potom se **urychluje** asi dvakrát.
- Histologickou známkou náboru oocytu je přeměna plochého **tvaru folikulárních buněk** v kubický.

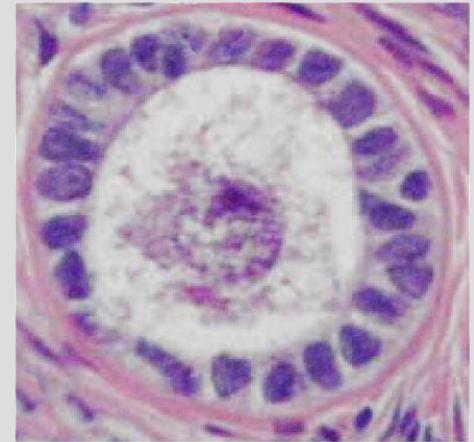
Folikulogeneze

Období folikulogeneze je možno rozdělit do dvou fází:

- preantrální
- antrální

Preantrální

- gonadotropin independentní
- charakterizována růstem a diferenciací oocyty
- regulace růstovými faktory autokrinními a parakrinními mechanismy
- skládá se z primordiálního, primárního a sekundárního stadia
- vývoj od primordiálního do plně vyvinutého sekundárního folikulu potřebuje **290 dní**



Primární folikul - růst a diferenciaci oocytů

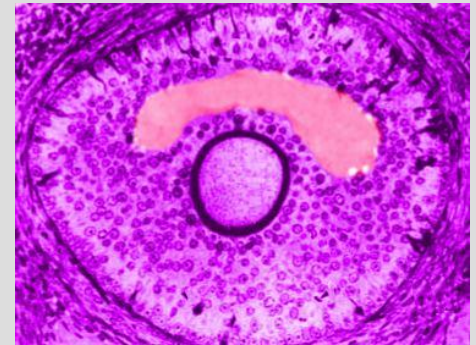
- Během preantrální periody vzroste průměr primárního foliulu z 25 na 120 μm , což souvisí s reaktivací genomu oocytu.
- Jsou aktivovány geny pro proteiny zona pellucida. Tyto proteiny začínají vytvářet na povrchu oocytu zonu.
- Oocyt produkuje autokrinní faktory GDF-9 a BMP-15.
- Vytvářejí se spojení (gap junctions) mezi oocytem a folikulárními buňkami.

Sekundární folikul – vývoj základní struktury folikulů

- K přechodu mezi primárním a sekundárním folikulem dochází v okamžiku, kdy se vytváří další vrstva folikulárních buněk – vzniká **membrana granulosa**.
- Současně se začíná diferencovat **theca folliculi**.
- Na konci preantrálního vývoje nacházíme plně vzrostlý oocyt obklopený zonou, asi 9 vrstev folikulárních buněk, bazální laminu, theca interna a externa a kapilární síť v thece.
- Po skončení růstu získává oocyt schopnost **pokračovat v meióze**.

Antrální

- gonadotropin dependentní
- charakterizována překotným růstem folikulu
- regulace především FSH/LH
- regulace růstovými faktory autokrinními a parakrinními mechanismy
- antrální fáze je typicky dělena do čtyř stadií - malý, střední, velký a preovulační folikul
- po dosažení průměru folikulu 0,4 mm se růst urychluje
- doba potřebná od zformování antra po dosažení průměru 20 mm je asi **60 dní**
- dominantní folikul se selektuje z kohorty asi 5 folikulů
- atrézie se vyskytuje od sekundárního folikulu, nejvíce na stadiu malých a středních antrálních folikulů



Završení vývoje oocytu

- Pík LH vyvolá 1. zrací dělení – výsledkem je oocyt v metafázi II
- Po oplození dojde k dokončení meiózy II

Přehled spermatogeneze

- Prenatální vývoj

Zastaven v premeiotickém stadiu

- Postantální vývoj

Probíhá kontinuálně

Prenatální vývoj

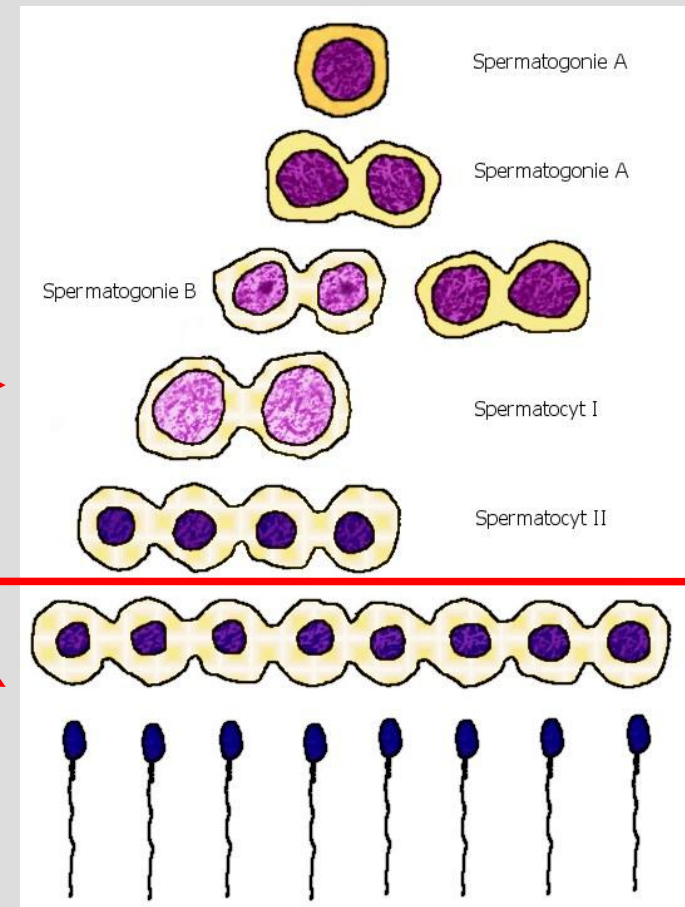
- Primordiální pohlavní buňky stejně jako u ženského pohlaví putují ze žloutkovém vaku cestou dorsálního mesenteria k základům pohlavních žláz.
- Po vcestování do základu budoucího varlete se stávají součástí provazců, které na začátku **10. týdne** mají podobu vlásečkovitých kliček, připojených do rete testis. Tyto kličky mají kruhovitý nebo oválný průřez a jsou složeny z podpůrných buněk (budoucí buňky Sertoliho) a gonocytů.

- **Prespermatogeneze**

Během spermatogeneze (10. - 26. týden) dochází k vývoji prospermatogonií, vznikajících čilým mitotickým dělením gonocytů. Jejich buněčný cyklus se zastavuje v G1-fázi.

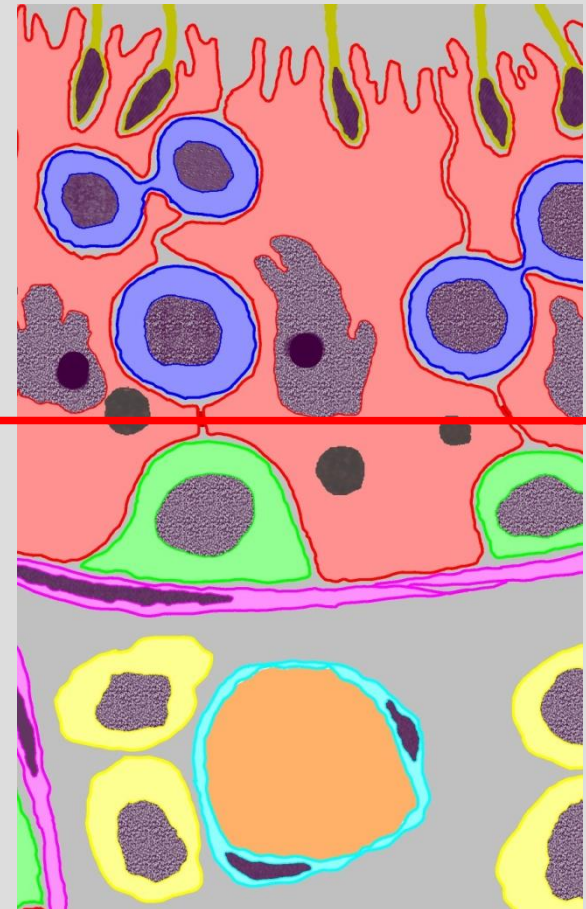
Postnatální vývoj

- Zhruba kolem 11. roku věku dochází k diferenciaci histologické struktury varlat, znovuvytvoření Leydigových buněk a k postupnému startu spermatogeneze.
- Spermatogeneze
- Spermioogeneze



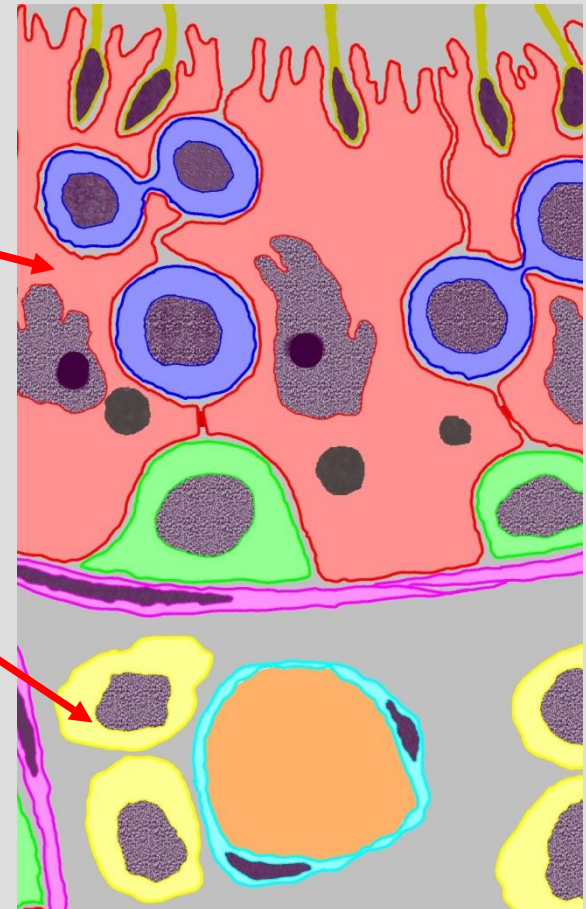
Postnatální vývoj

- Vývoj spermií probíhá v tubuli seminiferi contorti varlete
- **Lamina epithelialis** tubulu je rozdělena na dva kompartmenty:
 - Adluminální k.
 - Bazální k.
- ❖ Sertoliho buňky
- ❖ Vývojová stadia
- **Lamina propria - intersticium**
- ❖ Leydigovy buňky

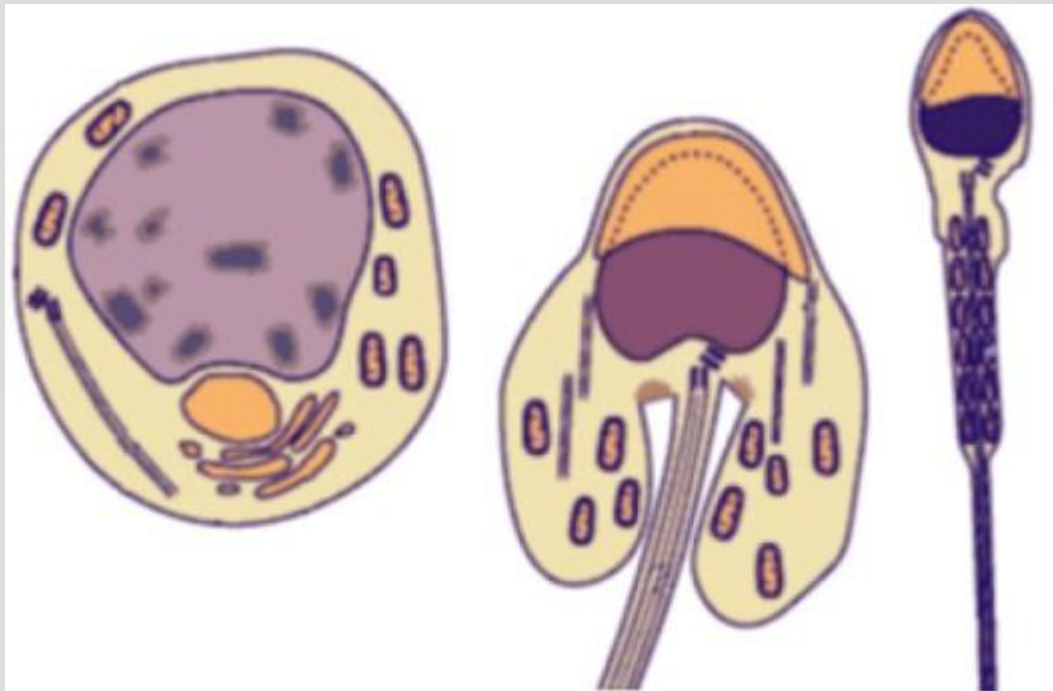


Řízení spermatogenézy

- FSH
- LH
- Inhibin
- Testosteron
- ABP
- Beta-endorfin
- Estradiol



Spermiace



Kinetika spermatogeneze

- Vývoj od spermatogonie po spermatidu trvá 74 dní
- Transport nadvarletem trvá 8 – 17 dní
- Každou hodinu opouští varle 1 milion spermií