

PETEVEZETŐ SZEREPE A SERTÉS SZAPORODÁSÁBAN

EGERSZEGI ISTVÁN – PÁBLE TAMÁS – RÁTKY JÓZSEF – KLAUS-PETER BRÜSSOW

ÖSSZEFOGLALÁS

A petevezető számos fontos szaporodás-élettani folyamat helyszíne. Szerepe van a spermiumok transzportjában, tárolásában és kapacitációjában, a petesejtek fogadásában, transzportjában és érésében, illetve a termékenyülésben és a korai embrionális fejlődésben. A sikeres szaporodás érdekében sejt, és molekuláris szinten képes jelentősen megváltoztatni egyes szakaszainak szövettani szerkezetét, ezzel biztosítva a gaméták és korai embriók számára a megfelelő környezetet. Szerzők az utóbbi évtizedek jelentősebb tudományos eredményeit és saját vizsgálataik eredményeit foglalták össze a sertés petevezetővel kapcsolatban.

SUMMARY

Egerszegi, I. – Páble, T. – Rátky, J. – Brüssow, K-P.: ROLE OF OVIDUCT IN SWINE REPRODUCTION

Fallopian tube is a very important organ, which is the site of several reproductive physiological processes. It has a role in transportation, storage and capacitation of spermatozoa, oocyte pick up, transportation and final maturation, fertilization and early embryonic development. It has the ability to modify of hystological structure of its different segments in cellular and molecular levels to ensure the adequate environment for gametes and early embryos. Authors give an overview about scientific results of the last decades and of own experiments concerning on porcine oviduct.

BEVEZETÉS

A petevezetőt (PV) - másként oviductus, salpinx, Fallopián- illetve uterus-vezeték – Gabriele Fallopio, a Padovai Egyetem anatómia, sebész és botanikus professzora írta le először 1561-ben (Thiery, 2009). Hosszú ideig a petevezetőt csak, mint a petefészket és méhet összekötő vezetéket kezelték és a női gaméta felfogására szolgáló szervnek tekintették, ami a korai embrionális fejlődés helyszíneként is szolgált. Az 1960-as évekre bizonyították a fertilizáció szempontjából létfontosságú szerepét a spermiumok végső érésében, a kapacitációban (Austin és Bishop, 1958). Manapság az oviductust, mint dinamikusan változó reprodukzív szervet tartják számon, amely a működését tekintve még sok érdekes feltárni való élettani kérdést rejtget (Hunter, 1988, 1996).

A petevezető nagyon fontos szerepet játszik a spermiumok transzportjában, tárolásában és kapacitációjában, a petesejtek fogadásában (oocyt pick-up), transzportjában és érésében, illetve a termékenyülésben és a korai embrionális fejlődésben. A spermium és petesejt interakciója és a termékenyült petesejt első osztódása során szoros kontaktusban van a petevezető epithellel és annak szekrétumával a petevezető folyadékban (PVF) (Gandolfi, 1995). Az utóbbi évtizedben számos összefoglaló cikk témája volt a PV felépítése, funkciója valamint a PVF összetétele és szerepe a termékenyülésben (Leese és mtsai, 2001; Hunter, 2005; Brüssow és mtsai, 2008; Suarez, 2008; Holt és Fazeli, 2010; Coy és mtsai, 2012). Jelen dolgozat célja az utóbbi évtizedek ismeretanyagának összegzése és ahhoz kapcsolódó saját vizsgálataink ismertetése.

A PETEVEZETŐ FELÉPÍTÉSE, ENDOKRIN ÉS EXOKRIN SZABÁLYOZÁSA

A sertés petevezetője anatómiailag három szegmensre osztható: infundibulum (petevezető tölcser), ampulla és isthmus. A szegmensek közti átmeneteket ampulla-isthmus kapcsolatnak (AIJ), ill. utero-tubális junctionnak (UTJ) nevezzük (1. ábra).

A petevezetőt a lumentől a savóshártya felé haladva nem glanduláris mucosa, szekréciós és ciliális sejtek (endosalpinx), hosszanti és körkörös izomzat

1. ábra: A petevezető szakaszainak sematikus ábrája.

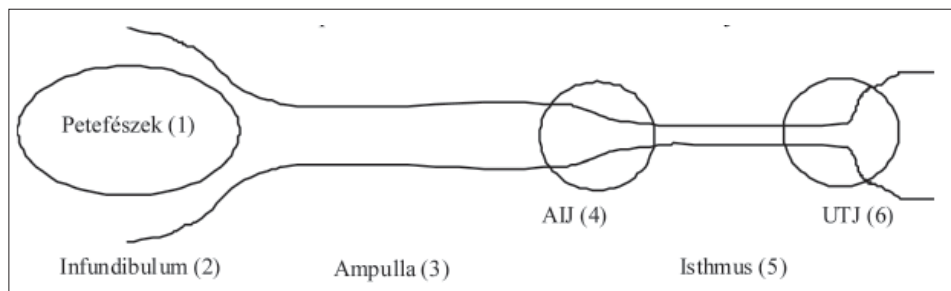


Figure 1.: Schematic structure of the Fallopian-tube
Ovary (1), infundibulum (2), ampulla (3), amullar-isthmic-junction (4), isthmus (5), utero-tubal-junction (6)

(mysalpinx) építi fel a legkülső réteg a serosa (mesosalpinx). Az ampullának és isthmusnak eltérő a simaizom réteg felépítése, és különböznek a szekréciós sejtek elhelyezkedésében is. A petevezető eltérő szövettani felépítése határozza meg az különböző tubális szakaszokat, amelyek specifikus működésükkel optimális környezetet biztosítanak, tekintettel a pH-ra, ozmotikus nyomásra, táplálóanyagokra, speciális szekréciós termékekre és szignálmolekulákra. Mindez elősegíti és szabályozza a gaméták fejlődését és interakcióját, illetve a zigóta első osztódásait. Yaniz és mtsai (2006) scanning-elektron mikroszkóppal vizsgálták a sertés petevezető nyálkahártya ultrastruktúráját az ivari ciklus alatt. A tüszőfázisban a csillókkal rendelkező sejtek aránya jelentősen megnőtt a PV infundibulumban és ampullában található redők csúcsi részén, míg a sárgatestfázisban a szekretórikus sejtek kerültek túlsúlyba. Ezzel ellentétben a PV caudális szegmensében a ciklus során egységesen voltak jelen csillangós és szekréciós sejtek.

Az 1980-as évek elején rámutattak a PF tüszőben található hormonok lokális transzferjére a PF vénából a PF és UT artériákba, ami feltehetően a petevezető fő mediátora. A szteroidok és prosztaglandinok direkt hatása a periovulációs időszakban fokozza a PV isthmikus szakaszának kontrakcióit és a spermiumok kiáramlását a rezervoárból a termékenyülés helye felé (Hunter és mtsai, 1983). Később kimutatták, hogy a preovulációs időszakban az ösztrogén fokozza a PV-ben az LH receptorok szintézisét az epithel sejtekben és a sima izmokban, így az LH a PV, különösen az isthmus relaxációját okozza (Gawronska és mtsai, 1999). A petevezető folyadék (PVF) összetétele különbözik a vérplazma jellemzőitől, mind az ionokat mind más tápanyagokat tekintve. A PVF kitűnik a magas K^+ és HCO_3^- tartalmával és a koncentrációja a ciklusnak megfelelően változik. A PVF glükóz tartalma például az ovulációt követően tizedére esik le sertésben (Nichol és mtsai, 1992, 1998).

SPERMIMUMTRANSPORT – SPERMIMUM REZERVOÁR

A kan spermiumok transzportja három szakaszra osztható: 1) a termékenyítést követően egy gyors, méhen való áthaladás; 2) bizonyos számú spermium feltölti a petevezetőben található spermium rezervoárt; 3) ovuláció idején a rezervoárból felszabadulnak a spermiumok, és a termékenyülés színhelyére, az AIJ-ba jutnak (Blandau and Gaddum-Rosse, 1974; Hunter, 1981). A preovulációs spermiumrezervoár az isthmus caudalis szakaszában található, ahol a spermiumok 24 órán keresztül megőrzik ultrastruktúrájukat és életképességüket. A spermium raktár fő feladata, hogy megfelelő számú fertilis spermatozoa legyen a petevezetőben a termékenyülés idején (Hunter, 1995). Több élettani mechanizmus biztosítja, hogy időlegesen megfelelő számú hímivarsejt kerüljön a raktár „fogságába”. A nyálkahártya ödémássá válik, és viszkozus nyák borítja be az amúgy is nagymértékben beszűkült lumenű isthmust. Ezen felül a caudalis isthmusban 0,7-1°C-szal csökken a hőmérséklet, ami különleges enzimatis és ionkörnyezetet eredményez. Ez szelektív epitheliális spermiumkapcsolódást tesz lehetővé, és szinte megszünteti a hímivarsejtek motilitását, ezzel is késleltetve a spermiumok kapacitációját (Hunter, 1984; Hunter and Nichol, 1986; Mburu és mtsai, 1997; Rodriguez- Martinez és mtsai, 1991, 1998). A caudalis isthmusban mélyen a nyálkahártyaredőkben helyezkednek el az intakt spermiumok, részben érint-

kezve a nyálkahártyával, vagy az amorf intraluminális masszában közvetlen kapcsolat nélkül az epithelhez tapadnak. A legújabb kutatások alapján a PV-SR kialakulásának lehetősége nem korlátozódik a preovulációs időszakra. Kísérletes körülmények között laparoszkópos intrauterin inszeminálást végeztek kocasüldők ovuláció szinkronizálását követően a peri- (31h a hCG után) és a posztovulációs (79h a hCG után), illetve a ciklus 9. napján. Az eredmények azt mutatták, hogy a SR működik a ciklus eltérő időszakában is, habár a ciklus közepén a PV milxióje nem kedvez a spermiumok minőségének (Brüssow és mtsai, 2014, 1. táblázat). Az utóbbi években számos vizsgálatot végeztek a SR kialakulásának, molekuláris hátterének felderítése érdekében. A hyaluronsav az egyik leggyakrabban előforduló glükozaminoglükán a PV epithel sejteken, a PVF-ban és a PV lamina propriában (Thientai és mtsai, 2000). A hyaluronsavat kötő fehérjék (HABP) közül 4 típust írtak le a sertés PV epithelben, ezek közül a 200 kDa-ost CD44-ként határozták meg. A CD44 mRNS expressziója magasabb volt az ovuláció előtt, mint azután. A CD44 receptorok száma a spontán ivarzás során a nem termékenyített kontroll egyedekben szintén meghaladta az inszeminált csoportban mért értékeket, ebből arra következtettek, hogy a spermiumok jelenléte a rezervoárban szabályozza a CD44 expresszióját. Az eredmények alapján a CD44-szignál „pathway” szerepet játszhat a spermiumok tárolásában és a termékenyülésben (Tienthai és mtsai, 2003). Sertésben a galaktozil és mannozil maradványok is szerepet kapnak a spermium-PV kapcsolat kialakulásában. A spermium-PV epithelkötés során elsődlegesen szénhidrát-fehérje interakció történik. A sertésben a spermadhesin AWN és AQN1 a két domináns szénhidrát kötő protein a spermium protein. Kísérletesen bizonyították, hogy a két fehérje közül csak a spermadhesin AQN1 képes mind az α - és β - galaktóz, mind a Man α 1-3(Man α 1-6)Man molekulákhoz kapcsolódni, így az spermadhesin AQN1 szerepet játszhat a spermium rezervoár kialakításában (Ekhlasi-Hundrieser et al. 2005).

1. táblázat

A spermiumok minősége az ivari ciklus eltérő időszakaiban (Brüssow és mtsai, 2014)

	Intakt akroszóma (1) (%)	Sérült akroszóma (2)(%)	Spermium farok (3) rendellenesség (%)
31 h hCG után	66,4 $\pm$ 6,0 ^a	29,3 $\pm$ 6,5 ^{a,b}	17,4 $\pm$ 4,0 ^{a,b}
79 h hCG után	76,8 $\pm$ 3,5 ^a	16,2 $\pm$ 2,6 ^a	7,0 $\pm$ 1,7 ^a
Ciklus 9. napja	32,8 $\pm$ 3,9 ^b	38,6 $\pm$ 2,7 ^b	28,2 $\pm$ 4,3 ^b

Oszlopokban ^{a,b} P<0,05Within a column: ^{a,b} P<0.05

Table 1. Assessment of sperm quality at different time points of the oestrus cycle (Brüssow et al., 2014) Intact spermatozoa (1) Damaged acrosome (2), Sperm tail anomalies (3), 31 h after hCG (4), 79 h after hCG (5), 9th day of cycle (6)

PERIOVULÁCIÓS SPERMIUM KIÁRAMLÁS A REZERVOÁRBÓL

In vivo körülmények között sertés esetében viszonylag kicsi a spermium / petesejt arány a petevezető ampullájában, aminek az élettani jelentősége a polispermia megakadályozása. Ez részben a spermium grádiens, illetve az

ondósejtek rezervoárból történő felszabadulásának ovariális kontrolljának köszönhető. Mesterséges termékenyítés/búgatás során $1,5-60 \times 10^9$ spermium is deponálódhat a méhbe. Ez a szám drámaian lecsökken, a caudális isthmusban $>10^4$, a cranialis isthmusban $>10^3$ hímivarsejt található. A termékenyülés helyére, az AIJ-ba pedig legfeljebb néhány ezer spermium jut el. A spermiumok periovulációs időszakban bekövetkező rezervoárból való felszabadulásában a petefészek szolgáltató szignált (nagy valószínűséggel a progeszteron). A petevezető ödémás beszűrődése csökken, ami a lumenének megnyílásához vezet, ezzel kezdetét veszi a spermiumok kapacitációja, amit az akroszóma-reakció követ a petesejtekkel történő találkozásokor. A hiperaktív spermium motilitás és a petefészek felé irányuló petevezető kontrakciók is elősegítik a termékenyülés helyére való eljutást (Rodriguez-Martinez és mtsai, 1982; Hunter, 1995; Mburu és mtsai, 1997; Suarez, 1998).

Kísérletesen bizonyított, hogy a tüszőfolyadék (TF) összetevői befolyásolják a spermiumok előre irányuló mozgását. Progeszteron vagy TF mikroinjektálása az isthmus serosa alá vagy a lumenébe polispermia indukált (34,0 ill. 34,8%). Szteroid mentes TF-ot vagy fiziológiás sóoldatot alkalmazva, a polispermás termékenyülés aránya mindössze 1,7 ill. 2,1% volt (Hunter, 1972; Hunter és mtsai, 1999). A TF hatása azonban nem közvetlenül a petevezetőre irányul. Saját vizsgálatokban igazoltuk, hogy a TF az ovulációkor nem vagy csak nagyon csekély mennyiség ($<0,1\%$) éri el a petevezetőt (Brüssow és mtsai, 1999a, b). A TF petevezető ligatúrával, illetve aspirációval való kizárása nem befolyásolta a spermiumok petevezetőbeli eloszlását (2. táblázat).

2. táblázat

Az átlagos spermiumszám ($\pm$ SD) alakulása a petevezető különböző szakaszaiban a TF petevezetőbe jutásának ligatúrával ill. tüszőaspirációval való kizárását követően
(Brüssow és mtsai, 1999a).

Csoport (1)	Állatszám (2)	Átlagos spermiumszám ($\times 10^3$) (3)		Szignifikancia (4)
		Ampulla (5)	Isthmus (6)	
Ligatura (7) Kontroll (8)	4	0 $5,73 \pm 7,77$	$5,47 \pm 6,44$ $10,41 \pm 6,63$	n.s
Aspirált (9) Kontroll	4	0 $4,16 \pm 7,21$	$10,67 \pm 13,25$ $9,89 \pm 6,76$	n.s
Ál-ligatura(10) Kontroll	4	$4,16 \pm 7,21$ $8,33 \pm 8,33$	$5,73 \pm 6,80$ $9,89 \pm 7,11$	n.s

Table 2. Mean number of spermatozoa ($\pm$ SD) in different oviductal segments, where follicular fluid (FF) entry in oviduct was prevented by ligation of oviduct or FF aspiration (Brüssow et al., 1999a) Group (1), Animals (2) Mean number of spermatozoa ($\times 10^3$) (3), Significance (4), Ampulla (5), Isthmus (6), Ligation (7), Control (8), FF aspiration (9), sham ligation (10)

Később bebizonyosodott, hogy a TF komponensei szerepet játszanak a termékenyülésben. Miután TF-kal együtt ültettek petesejteket termékenyített recipiens kocák petevezetőjébe szignifikánsan magasabb termékenyülési rátát értek el a kontrollhoz (PBS médiummal átültetett) képest (Brüssow és mtsai, 2001; 3. táblázat).

3. táblázat

In vivo termékenyülési és osztódási arány a kumulusz-petesejt-komplexek TF-kal vagy nélkül (PBS) történt transzferét követően

(Brüssow és mtsai, 2001; Brüssow és mtsai, 2003).

		TF (1)	PBS (2)	Kontroll (3)
Petevezetők (4)	n	24	22	24
Átültetett petesejtek (5)	n	206	144	-
Visszanyert petesejtek (6)	n	138	70	235
Kinyerési arány (7)	%	67 ^a	45,5 ^b	73,4 [*]
Termékenyült petesejtek (8)	n	78	26	119
Termékenyülési ráta (9)	%	56,5 ^a	37,1 ^b	50,6 ^a
Osztódott petesejtek (10)	n	76	26	113
Osztódási ráta [#] (11)	%	97,4	100	98,3

* az ovulált petesejtekhez viszonyítva; # a termékenyült petesejtekhez viszonyítva; ^{a,b} p<0,05

* relative to the number of ovulated follicles; #relative to the number of fertilized oocytes; ^{a,b} p<0.05

Table 3. In vivo fertilization and cleavage rate of porcine cumulus-oocyte-complexes (COCs) transferred together with follicular fluid (FF) or PBS. (Brüssow et al., 2001; Brüssow et al., 2003) Follicular fluid (1), PBS (2), Control (3), Number of oviducts (4), Number of transferred COCs (5), Number of oocytes recovered (6), Recovery rate (7), Number of oocytes fertilized (8), Fertilization rate (9), Number of cleaved embryos (10), Cleavage rate (11)

Kísérletes viszonyok bizonyították, hogy COCs megjelenése a PV-ben és a hyaluronsav közvetlenül is szerepet játszhat a spermatozoák SR-ból való kiáramlásában (Brüssow és mtsai, 2006). A spermium rezervoárból kiáramló ondósejtek mozgásának hiperaktívvá válása elengedhetetlen ahhoz, hogy a termékenyülés megtörténjen in vivo körülmények között. A spermiumoknak a termékenyülés színhelyére kell jutniuk a PV szűk, nyákkal telt, labirintusos lumenén keresztül, és ott át kell hatoljanak a kumulusz sejteken, valamint a zona pellucidán. A hiperaktív mozgást kiváltó szignál még nem teljesen ismert, de szerepe van a Ca²⁺ is, amely az ondósejtek flagellumának szimmetrikus csapásait aszimmetrikussá változtatja. Továbbá jelentős mennyiségű ATP és cAMP szükséges a sejtek intenzív mozgásához (Ho és Suarez, 2001). Kísérletekben bizonyították, hogy a PVF magas bikarbonát tartalma jelentősen stimulálja az ondósejtek mozgását. Azonban nagy egyedi különbségek lehetnek a kanok között, illetve az egyes ejakulátumokból a SR-ban megtelepedett spermium szubpopulációk bikarbonátra adott válaszreakcióinak érzékenységeiben (Tienthai és mtsai, 2004; Satake és mtsai, 2006). A kapacitáción átesett spermiumok életképessége nagyon rövid időre tehető. Ezért feltehetően a SR-ból való kiáramlás nem tömegesen, hanem folyamatosan szakaszokban történik, így a SR-ban változó arányban, több különböző spermium populációt magába foglaló sejt tömeg ismerhető fel (Rodriguez-Martinez és mtsai, 2005).

PETESEJT FOGADÁSA ÉS TRANSPORTJA

Az ovuláció időpontjáig a petesejtek intrafollikuláris érése végbemegy és metafázis II érési stádiumban ovulálnak. A petesejtleváláskor az oocytákat az infundibulum fogja fel és a csillók mozgása által illetve irányított kontrakciók támo-

gátásával a petevezető ampullába kerülnek (Oxenreider and Day, 1965; Alanko, 1974). A petesejtek transzportja a petevezető folyadék áramlásával ellentétes irányba 30-45 perc alatt történik az ampullán keresztül a termékenyülés helyére, az AIJ-ba. Az oocyták a kumulsz sejtekkel körülvéve, egy petesejt csomóban található, az ún. „egg plug – petesejtcsomó/dugó”-ban (Hancock, 1961). Az ovulációt követő 6 órán belül a kumulusz sejtek az ekkor termelt petevezető folyadék- és spermiumproteinek hatására feloldódnak.

TERMÉKENYÜLÉS ÉS KORAI EMBRIÓFEJLŐDÉS

Az ovulációval és a petesejtek AIJ-ba történő transzportjával párhuzamosan kapacitált és termékenyítőképes spermiumok szabadulnak fel a spermium rezervoárból. A spermium rezervoárból kiáramló, a kapacitáción átesett ondósejtek a petesejtek zona pellucida (ZP) glükoproteinek neutrális N-glikán komplexeihez kötődnek. A kötés során beindul az akroszóma reakció és az akroszóma membránból kiáramlik és aktiválódik a pro/akrozín. A pro/acrosin elősegíti a spermiumok másodlagos kötését azáltal, hogy a ZP poliszulfatált-glikánjaihoz kapcsolódik (Töpfer-Petersen és mtsai, 2008). A petesejtek és spermiumok találkozásának lehetősége időben behatárolt, mivel mindkét gaméta igen labilis sejtípus, és spontán akroszóma-reakció ill. gyors citoplazmatikus öregedés mehet végbe (Hunter, 1994). A termékenyülés folyamata több egymást követő esemény sorozata, ami a spermium petesejthez érkezésével, majd a zona pellucidához kapcsolódásával veszi kezdetét. Ezzel megindul az akroszóma-reakció és spermiumpenetráció. A hímivarsejt és a petesejt fúziójával az ovum aktiválódik. A petesejt aktiválódása elindítja sejtmag metafázis II stádiumból anafázis II állapotba történő alakulását és a 2. sarkitest kilökődését, a haploid kromoszómakészlet felépülését (Hancock, 1961; Szöllösi és Hunter, 1973; Hughes és Varley, 1980). A kortikális granulumok kiáramlásával a zona pellucida „megkeményedik”, így több spermium nem juthat be (polispermia akadályozása) (Hunter, 1991). A női és hím előmagok összeolvadásával kezdetét veszi a diploid zigóta első mitotikus osztódása. Az ovuláció időpontjától és a fejlettségüktől függően az embriók a petevezető eltérő szegmensében tartózkodnak (2. ábra).

A zigóták 8 órával az ovulációt követően az AIJ-ban az isthmus cranialis régiójában található. 24-28 óra elteltével az embriók 2-sejtes stádiumban, 26-32 óra után 4-sejtes állapotban az isthmusban lelhetők fel. A négysejtes embriók (fejlődési-blokk) hosszabb ideig az isthmusban maradnak, az UTJ, sphinkterként/záróizomként működik és csak 50-56 óra elteltével vándorolhatnak az embriók a méhbe. A négysejtes blokk az UTJ hormonálisan előidézett relaxációjával és méhírányú kontrakciók hatására oldódik.

A proteinszintézis a normális korai embriófejlődéshez elengedhetetlen, amit a kezdetekben a maternális genom szabályoz/irányít. A 2-sejtes állapotban veszi kezdetét, majd először 4-sejtes stádiumban veszi át az embrionális genom a szintézis felügyeletét (Jarrel és mtsai, 1991). A petevezetőben tartózkodó embriók a petevezető folyadékban oldott szérum transzszudátumok, növekedési faktorok és specifikus PV proteinek szabályozó hatása alatt állnak (Buhi és mtsai, 1997). Például egy 97 kd nagyságú PV specifikus protein százalékos aránya a petevezető folyadékban található összproteinből az 1-3. napon a 10,3%-ot is elérheti

2. ábra A petesejtek/embriók posztovulációs eloszlása a petevezető szakaszokban (Brüssow, 1985)

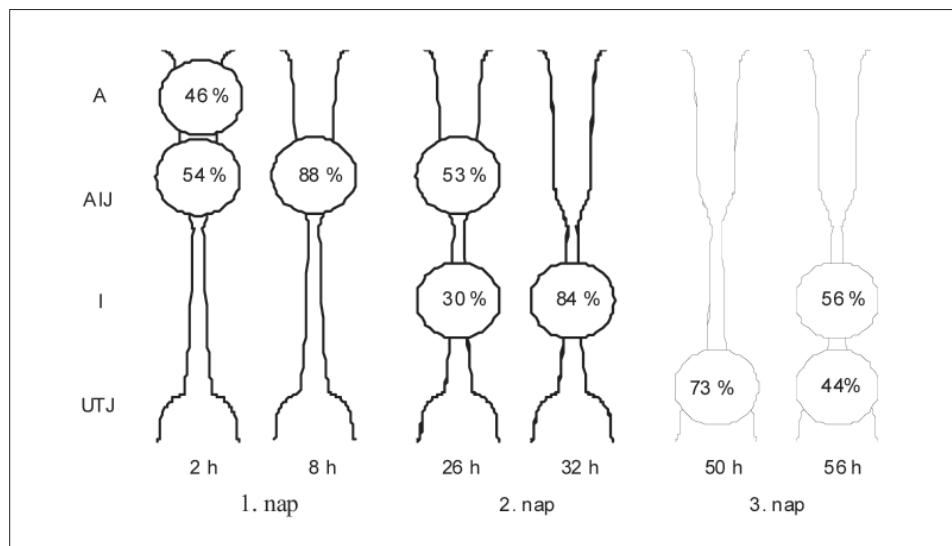


Figure 2. Distribution of pig ova/embryos in oviducts relative to the ovulation (Brüssow, 1985).

(Wollenhaupt és Brüssow, 1995). Ez a 97 kd-os protein kimutatható az in vivo érett zigotákból, ill. a morula stádiumú embriókból, azonban in vitro embriókban nem található meg (Brüssow és mtsai, 1998). A petevezető által szecernált specifikus proteinek hiánya magyarázatul szolgálhat az in vitro kultiváció során fellépő hiányos embriófejlődésre, különösen a 4-sejtes blokk áthidalásánál.

A TERMÉKENYÜLÉST BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK

Optimális termékenyüléshez a spermiumok (mesterséges termékenyítés), petesejtek (ovuláció) és petevezető (tubális milliő, kontrakciók) összehangolt együttműködése szükséges. A kapacitáció például állandó konfliktus a spermiumok életképességének fenntartása és destabilizációjuk között. Ha a petesejttel való találkozás előtt következik be, a spermium termékenyítőképtelenné válik, és beáll a sejthalál. Korai termékenyítés esetén (>24 h az ovuláció előtt) csökken a termékenyülési arány. A petesejtek elöregedése szintén lényegesen befolyásolja a fertilizációt. A megkésített inszeminálás esetén szintén csökken a spermiumok termékenyítőképesége – bár megfelelő számú járulékos hímivarsejt van jelen – a zona „keményedése”, illetve a polispermiás penetráció következhet be (Hunter, 1991; Kim és mtsai, 1996b). A csekély számú normálisan fejlett embrió (>32h és 32-24h-val az ovulációt megelőzően, illetve >8 h-val azt követően végzett termékenyítés esetén, összehasonlítva a 91-100% normálisan fejlett embrióval 16-0 h-val az ovuláció lezajlása előtt végzett inszeminálást követően bizonyította a spermiumok és petesejtek elöregedésének a hatását (Soede és mtsai, 1995).

A hormonális szabályozás hibái és az exogén hormonok is befolyásolhatják a

termékenyülés folyamatát. A magas posztovulációs progeszteron koncentráció növeli a spermium raktárból „kiszabadult” sejtek számát, illetve a polispermia esélyét (Hunter, 1991). A nagy dózisu PMSG befolyásolhatja a petesejtek transzportját, 1500 NE PMSG-vel végzett szuperovulációs kezelés megkésett petesejtvándorlást eredményezett az ampullában (1 nappal az ovuláció után) és gyorsabb méhbeli transzportot (3. nap, Brüssow és mtsai, 1987). Sőt, a termékenyült és nem fertilizált petesejtek is eltérően mozogtak a petevezetőben (4. táblázat).

In vivo körülmények között a fertilizációt megelőzően a spermiumokat 1% TF tartalmú médiumban inkubálva csökkent a petesejtekhez kötődő ondósejtek száma és a polispermiás termékenyülés aránya is (Funahashi és Day, 1993). Szintén in vitro kísérletben vizsgálták a fertilizációs médium 1% illetve 10%-os kiegészítését PVF-kal, aminek hatására csökkent a spermium penetrációs arány és a petesejtenként penetrált ondósejtek száma. Ha azonban a petesejteket inkubálták 1,5 óráig 10% és 30% PVF tartalmú médiumban, a monospermiás termékenyülések száma növekedett úgy, hogy a penetrációs arány sem csökkent. Az eredmények alapján azt a következtetést vonták le, hogy a PV szekrétumában olyan faktorok vannak jelen, amelyek elősegítik a kortikális reakció folyamatának és a zona pellucida módosulásának bekövetkeztét (Kim és mtsai, 1996a).

4. táblázat

A termékenyült és nem termékenyült petesejtek eloszlása a petevezető szakaszaiban
(Brüssow and Rátky, 1996)

Nap (1)	Ampulla (2)		Isthmus (3)		UTJ (4)	
	Terméke- nyült (%) (5)	Nem termé- kenyült (%) (6)	Terméke- nyült (%)	Nem termé- kenyült (%)	Terméke- nyült (%)	Nem termé- kenyült (%)
1	93 ^a	64 ^b	7	36	-	-
2	20	9	80	91	-	-
3	4	8	10 ^a	41 ^b	86 ^a	52 ^b

^{a,b} $p < 0,05$

Table 4. Distribution of fertilized and unfertilized oocytes in different oviductal segments (Brüssow and Rátky, 1996) Day (1), Ampulla (2), Isthmus (3), Utero.tubal-junction (4), Fertilized oocytes % (5), Unfertilized oocytes % (6)

Sertés esetében 10 különböző PV eredetű proteint azonosítottak, amelyek közül a legnagyobb arányban egy nagy molekulású sertés PV-specifikus, ösztrogén-függő glükoprotein (pOGP) szekretál a PV (Bui és mtsai, 1996; Bui, 2002). In vitro kísérletekben igazolták, hogy a pOGP csökkenti a polispermiás termékenyülés és a járulékos spermiumok arányát, de nem csökkenti a penetrációs rátát, továbbá embriótróf hatással bír (Kouba és mtsai, 2000; McCauley és mtsai, 2003). A sertés PV-ben is izolálták az atrial natriuretic peptidet (ANP) és annak receptorát több más emlőshöz hasonlóan. A spermiumok ANP-vel történt inkubálása in vitro körülmények között akroszóma reakciót indukált a cGMP függő protein-kináz útvonalon keresztül a sejtekben. Az ANP továbbá növelte a fertilizációs arányt. Ennek alapján arra következtettek, hogy a PV-ben termelt ANP élettani agonistaként működhet közre a termékenyülés szabályozásában.

Coy és mtsai (2010) a PVF-ből két protein frakciót teszteltek in vitro fertilizációs kísérletben. Mindkét fehérje frakció (a 100 kDa feletti és alatti is) jelentősen fokozta a spermiumok életképességét, akroszóma membrán integritását, csökkentette a membrán fluiditást, ezzel növelte a zonához kapcsolódó spermiumok számát valamint a polispermias termékenyülés arányát. Wollenhaupt és mtsai (1997) ciklus különböző szakaszaiban vizsgálták a petevezetőben és a méhben az epidermal growth factor receptor mennyiségét, és arra következtettek, hogy annak száma a PV és méh ösztrogén függő növekedésével együtt változik, így szerepe lehet a korai embrionális fejlődésben is. Kocasüldők petevezetőjének aquaporin (AQP) 1, 5 és 9 proteinek expresszióját határozták meg az ivari ciklus különböző napjain és a vemhesség korai szakaszában. A proteinek expressziója eltérően alakult a vizsgálati időpontokban, a legmagasabb értéket a ciklus 2-4 és 18-20. napján mutatott. Így a PV-ben kimutatott AQP fehérjék szerepet játszhatnak a termékenyülésben és korai embrionális fejlődésben is (Skowronski és mtsai, 2011). Novak és mtsai (2003) bizonyították, hogy a termékenyítést megelőző és azt követő takarmányozás változtatása nincs hatással a petevezető funkciójára és az embrió fejlődésére. A ciklus korábbi szakaszában alkalmazott takarmányozás viszont közvetlen hatással bír a fejlődő tüszőben a petesejtek minőségére és a petevezető szteroid-függő környezetére.

ÖSSZEFOGLALÁS

A petevezető dinamikus és a szaporodás sikerét tekintve jelentős befolyással rendelkező reproduktív szerv. A PV biztosít megfelelő miliót a spermiumok tárolására, kapacitációjához és transzportjához, illetve a petesejtek fogadására, transzportjához és termékenyüléséhez. A gaméták interakciója és a korai embriófejlődés a petevezetőben zajlik kontaktusban a PV nyálkahártyával és annak szekrétaival. A kutatások eredményei alapján áttekintő képet kaphatunk a PV-ben zajló komplex élettani folyamatokról, amelynek a végeredménye az utódok életének kezdete.

IRODALOM

- Alanko, M. (1974): Fertilization and early development of ova in AI-gilts, with special reference to the role of tubal sperm concentration: a clinical and experimental study. PhD-thesis, Helsinki
- Austin, C.R. – Bishop, M.W. (1958): Capacitation of mammalian spermatozoa. *Nature* 181:851.
- Blandau, R.J. – Gaddum-Rosse, P. (1974): Mechanism of sperm transport in pig oviducts. *Fertil. Steril.* 25: 61-67.
- Brüssow, K.-P. – Alm, H. – Rátky, J. – Wollenhaupt, K. – Torner, H. (1998): The influence of gonadotropins on porcine follicular growth and early embryonic development. *Proc 49th EAAP Meeting, Warsaw, abstr. MPhP4.4*, 127.
- Brüssow, K.-P. – Egerszegi, I. – Rátky, J. (2014): Is the Function of the Porcine Sperm Reservoir Restricted to the Ovulatory Period? *J. Reprod. Dev.* in press [Epub ahead of print 2014 Jun 24]
- Brüssow, K.-P. – Kauffold, M. – Bergfeld, J. (1987): Der Einfluß unterschiedlicher PMSG-Dosierungen auf die Ovarreaktion sowie auf die Verteilung und Qualität der Eizellen im Eileiter von Jungsaunen nach Ovulationssynchronisation. *Mh. Vet-Med.* 42: 764 – 768.

- Brüssow, K.-P. – Rátky, J. – Rodriguez-Martinez, H. (2008): Fertilization and early embryonic development in the porcine Fallopian tube. *Reprod. Dom. Anim. Suppl.* 2: 245-251.
- Brüssow, K.-P. – Rátky, J. – Schneider, F. – Torner, H. – Kanitz, W. – Solti, L. (1999b): Effects of follicular fluid on the transport of porcine oocytes into the oviduct at ovulation. *Reprod. Dom. Anim.* 34: 423-429.
- Brüssow, K.-P. – Rátky, J. – Torner, H. – Sarlós, P. – Solti, L. (1999a): Contribution of porcine follicular fluid in the process of fertilization in vivo. *Reprod. Dom. Anim.* 34: 139-145.
- Brüssow, K.-P. – Rátky, J. – Torner, H. – Solti, L. (2003): Possible role of follicular fluid on porcine in vivo fertilization. In: Sato E, Miyamoto H, Manabe N (eds), *Animal Frontiers*. Hokuto Pub Co. Ltd, Kyoto, 89–95.
- Brüssow, K.-P. – Torner, H. – Rátky, J. – Manabe, N. – Tuchscherer, A. (2006): Experimental evidence for the influence of cumulus-oocyte-complexes on sperm release from the porcine oviductal sperm reservoir. *J. Reprod. Dev.* 52: 249–257.
- Brüssow, K.-P. – Torner, H. – Rátky, J. (2001): Evidence of the involvement of porcine follicular fluid on in vivo fertilization. *Arch. Tierzucht* 44. SI1. 162.
- Brüssow, K.-P. (1985): Über die Verteilung der Eizellen im Eileiter von Jungsauen nach Ovulationssynchronisation. *Mh. Vet.-Med.* 40: 264-268.
- Brüssow, K.-P., Rátky, J. (1996): Distribution of ova within the oviduct of gilts after ovulation. *Reprod. Dom. Anim.* 31: 305-306.
- Buhi, W.C. – Alvarez, I.M. – Choi, I. – Cleaver, B.D. – Simmen, F.A. (1996): Molecular cloning and characterization of an estrogen-dependent porcine oviductal secretory glycoprotein. *Biol. Reprod.* 55:1305–1314.
- Buhi, W.C. - Alvarez, I.M. – Kouba, A.J. (1997): Oviductal regulation of fertilization and early embryonic development. *J. Reprod. Fert.* 52: 285-300.
- Buhi, W.C. (2002): Characterization and biological roles of oviduct-specific, oestrogen-dependent glycoprotein. *Reproduction* 123: 355–362.
- Coy P. – Lloyd, R. – Romar, R. – Satake, N. – Matas, C. – Gadea, J. – Holt, W.V. (2010): Effects of porcine pre-ovulatory oviductal fluid on boar sperm function. *Theriogenology* 74: 632-642.
- Coy, P. – García-Vázquez, F.A. – Visconti, P. E. – Avilés M. (2012): Roles of the oviduct in mammalian fertilization. *Reproduction* 144: 649-660.
- Ekhlas-Hundrieser, M. – Gohr, K. – Wagner, A. – Tsolova, M. – Petrunkina, A. – Töpfer-Petersen, E. (2005): Spermadhesin AQN1 is a candidate receptor molecule involved in the formation of the oviductal sperm reservoir in the pig. *Biol. Reprod.* 73: 536–545.
- Funahashi, H. – Day, B.N. (1993): Effect of follicular fluid at fertilization in vitro on sperm penetration in pig oocytes. *J. Rep. Fert.* 99: 97-103.
- Gandolfi, F. (1995): Functions of proteins secreted by oviduct epithelial cells. *Microsc. Res. Techn.* 32: 1-12.
- Gawronska, B. – Paukku, T. – Huhtaniemi, I. – Wasowicz, G. – Ziecik, A.J. (1999): Oestrogen-dependent expression of LH/hCG receptors in pig Fallopian tube and their role in relaxation of the oviduct. *J. Reprod. Fert.* 115: 293-301.
- Hancock, J.L. (1961): Fertilization in the pig. *J. Reprod. Fert.* 2: 307-331.
- Ho, H.-C. – Suarez, S.S. (2001): Hyperactivation of mammalian spermatozoa: function and regulation. *Reproduction* 122: 519–526.
- Holt, W.V. – Fazeli A. (2010): The oviduct as a complex mediator of mammalian sperm function and selection. *Mol. Reprod. Dev.* 77:934–943.
- Hughes, P.E. – Varley, M.A. (1980): Fertilization and conception; pregnancy. In: *Reproduction in the pig*. Butterworth, London
- Hunter, R.H.F. – Hagbard Pedersen, H. – Greve, T. (1999) Ovarian follicular fluid, progesterone and Ca^{2+} ion influences on sperm release from the fallopian tube reservoir. *Mol. Reprod. Dev.* 54: 283-291.

- Hunter, R.H.F. – Nichol, R. (1986): A periovulatory temperature gradient between the isthmus and ampulla of pig oviducts during the phase of sperm storage. *J. Reprod. Fert.* 77: 599-606.
- Hunter, R.H.F. (1972): Local action of progesterone leading to polyspermic fertilization in pigs. *J. Reprod. Fert.* 31: 433-444.
- Hunter, R.H.F. (1981): Sperm transport and reservoirs in the pig oviduct in relation to the time of ovulation. *J. Reprod. Fert.* 63: 109-117.
- Hunter, R.H.F. (1988): *The Fallopian tubes. Their role in fertility and infertility.* Springer Verlag, New York
- Hunter, R.H.F. (1991): Oviduct function in pigs, with particular reference to pathological conditions of polyspermy. *Mol. Reprod. Dev.* 29: 385-391.
- Hunter, R.H.F. (1994): Causes of failure of fertilization in domestic species. In: *Embryonic mortality in domestic species.* Zavy, M.T., Geisert, R.D. (eds), CRC-Press, Boca Raton, 1-22.
- Hunter, R.H.F. (1995): Ovarian endocrine control of sperm progression in the Fallopian tubes. *Oxford Rev. Reprod. Biol.* 17: 85-124.
- Hunter, R.H.F. (1996): How, when and where do spermatozoa gain their fertilising ability in vivo? *Reprod. Dom. Anim.* 31: 51-55
- Hunter, R.H.F. (2005): The Fallopian tubes in domestic mammals: how vital is their physiological activity? *Reprod. Nutr. Dev.* 45: 281-290.
- Hunter, R.H.F. –Cook, B. –Poyser, N.L. (1983): Regulation of oviduct function in pigs by local transfer of ovarian steroids and prostaglandins: a mechanism to influence sperm transport. *Europ. J. Obstet. Gynec. Reprod. Biol.* 14: 225-232.
- Jarrel, V.L. – Day, B.N. – Prather, R.S. (1991): The transition from maternal to zygotic control of development occurs during the 4-cell stage in the domestic pig, *Sus scrofa*: quantitative and qualitative aspects of prozein synthesis. *Biol. Reprod.* 44: 62-68.
- Kim, N.H. – Funahashi, H. – Abeydeera, L. R. – Moon, S. J. – Prather R. S. – Day B. N. (1996a): Effects of oviductal fluid on sperm penetration and cortical granule exocytosis during fertilization of pig oocytes in vitro. *J. Reprod. Fertil.* 107:79-86.
- Kim, N.H. – Moon, S.J. – Prather, R.S. – Day, B.N. (1996b): Cytoskeletal alteration in aged porcine oocytes and parthenogenesis. *Mol. Reprod. Dev.* 43: 513-518.
- Kouba, A.J. – Abeydeera, L.R. – Alvarez, I.M. – Day, B.N. – Buhi, W.C. (2000): Effects of the porcine oviduct-specific glycoprotein on fertilization, polyspermy, and embryonic development in vitro. *Biol. Reprod.* 63:242-250.
- Leese, H.J. –Tay, J.I. – Reischl, J. –Downing, S.J. (2001): Formation of Fallopian tubal fluid: role of a neglected epithelium. *Reproduction* 121: 339-346.
- Mburu, J.N. – Rodriguez-Martinez, H. – Einarsson, S. (1997): Changes in sperm ultrastructure and localization in the porcine oviduct around ovulation. *Anim. Reprod. Sci.* 41: 137-148.
- McCauley, T.C. – Buhi, W.C. – Wu, G.M. – Mao, J. – Caamaño, J.N. – Didion, B.A. – Day, B.N. (2003): Oviduct-specific glycoprotein modulates sperm-zona binding and improves efficiency of porcine fertilization in vitro. *Biol. Reprod.* 69: 828-834.
- Nichol, R. – Hunter, R.H.F. – Gardner, D.K. – Leese, H.J. – Cooke, G.M. (1992): Concentrations of energy substrates in oviductal fluid and blood plasma during the peri-ovulatory period. *J. Reprod. Fertil.* 96: 699-707.
- Nichol, R. – Hunter, R.H.F. – Gardner, D.K. – Partridge, R. – Leese, H.J. – Cooke, G.M. (1998): Concentrations of energy substrates in oviduct fluid in unilaterally ovariectomized pigs. *Res. Vet. Sci.* 65: 263-264.
- Novak, S. –Almeida, F. R. C. L. –Cosgrove, J. R. –Dixon W. T. –Foxcroft G. R. (2003): Effect of pre- and postmating nutritional manipulation on plasma progesterone, blastocyst development, and the oviductal environment during early pregnancy in gilts. *J. Anim. Sci.* 81:772-783.
- Oxenreider, S.L. – Day, B.N. (1965): Transport and cleavage of ova in swine. *J. Anim. Sci.* 24: 413-417.

- Rodriguez-Martinez, H. – Einarsson, S. – Larsson, B. (1982): Spontaneous motility of the oviduct in the anaesthetized pig. *J. Reprod. Fert.* 66: 615-624.
- Rodriguez-Martinez, H. – Ekstedt, E. – Ridderstrale, Y. (1991): Histochemical localization of carbonic anhydrase in the female genitalia of pigs during the oestrous cycle. *Acta Anat.* 140: 41-47.
- Rodriguez-Martinez, H. – Larsson, B. – Pertoft, H. – Kjellen, L. (1998): GAGs and spermatozoon competence in vivo and in vitro. ICAR 50th Special Anniversary Conference "Gametes: Development and Function", Sero, Milano
- Rodriguez-Martinez, H. – Saravia, F. – Wallgren, M. – Tienthai, P. – Johannisson, A. – Vázquez, J.M. – Martínez, E. – Roca, J. – Sanz, L. – Calvete, J.J. (2005): Boar spermatozoa in the oviduct. *Theriogenology* 63: 514-535.
- Satake, N. – Elliott, R.M.A. – Watson, P.F. – Holt, W.V. (2006): Sperm selection and competition in pigs may be mediated by the differential motility activation and suppression of sperm subpopulations within the oviduct. *J. Exp. Biol.* 209: 1560-1572.
- Skowronski, M. T. – Skowronska A. – Nielsen, S. (2011): Fluctuation of Aquaporin 1, 5, and 9 expression in the pig oviduct during the estrous cycle and early pregnancy. *J. Histochem. Cytochem.* 59: 419-427.
- Soede, N.M. – Wetzels, C.C.H. – Zondag, W. – De Koning, M.A.I. – Kemp, B. (1995): Effects of time of insemination relative to ovulation, as determined by ultrasonography, on fertilization rates and accessory sperm count in sows. *J. Reprod. Fert.* 104: 99-106.
- Suarez, S.S. (1998): The oviductal sperm reservoir in mammals: Mechanisms of formation. *Biol. Reprod.* 58: 1105-1107.
- Suarez, S.S. (2008): Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct. *Int. J. Dev. Biol.* 52: 455-462.
- Szöllösi, D. – Hunter, R.H.F. (1973): Ultrastructural aspects of fertilization in the domestic pig: sperm penetration and pronucleus formation. *J. Anat.* 116: 181-206.
- Thiery, M. (2009): Gabriele Fallopio (1523–1562) and the fallopian tube. *Gynecol. Surg.* 6: 93–95.
- Tienthai, P. – Kjellén, L. – Pertoft, H. – Suzuki, K. – Rodriguez-Martinez, H. (2000): Localization and quantitation of hyaluronan and sulfated glycosaminoglycans in the tissues and intraluminal fluid of the pig oviduct. *Reprod. Fertil. Dev.* 12: 173–182.
- Tienthai, P. – Johannisson, A. – Rodriguez-Martinez, H. (2004): Sperm capacitation in the porcine oviduct. *Anim. Reprod. Sci.* 80: 131–146.
- Tienthai, P. – Yokoo, M. – Kimura, N. – Heldin, P. – Sato, E. – Rodriguez-Martinez, H. (2003): Immunohistochemical localization and expression of the hyaluronan receptor CD44 in the epithelium of the pig oviduct during oestrus. *Reproduction* 125: 119–132.
- Töpfer-Petersen, E. – Ekhlasi-Hundrieser, M. – Tsoleva M. (2008): Glycobiology of fertilization in the pig. *Int. J. Dev. Biol.* 52: 717-736.
- Wollenhaupt, K. – Brüssow, K.-P. (1995): Isolation of a 97 kD porcine oviductal secretory protein using a high performance electrophoresis-chromatography (HPEC) system. *Reprod. Dom. Anim.* 30: 1-7
- Wollenhaupt, K. – Tiemann, U. – Einspanier, R. – Schneider, F. – Kanitz, W. – Brüssow, K.-P. (1997): Characterization of the epidermal growth factor receptor in pig oviduct and endometrium. *J. Reprod. Fertil.* 111: 173-181.
- Yaniz, J.L. – Lopez-Gatius, F. – Hunter, R.H.F. (2006): Scanning electron microscopic study of the functional anatomy of the porcine oviductal mucosa. *Anat. Histol. Embryol.* 35: 28–34.
- Zhang, M. – Hong, H. – Zhou, B. – Jin, S. – Wang, C. – Fu, M. – Wang, S. – Xia, G. (2006): The expression of atrial natriuretic peptide in the oviduct and its functions in pig spermatozoa. *J. Endocrin.* 189: 493–507.