

BIOHEMIJA I FIZIOLOGIJA TELESNIH TEČNOSTI ZNAČAJNIH ZA REPRODUKTIVNE PROCESE

Prof. M. Lazarević 2021.

SEKRETI GENITALNOG TRAKTA MUŽJAKA

1. TESTISI
2. EPIDIDIMIS
3. AKCESORNE POLNE ŽLEZDE
 - a. PROSTATA
 - b. SEMENE VEZIKULE
 - c. BULBO-URETRALNE ŽLEZDE
- SPROVODNI KANALI MGT

SEKRETI GT ŽENKI

1. VAGINALNI SEKRET
 2. CERVIKALNA SLUZ
 3. MATERičNI SEKRET
 4. FOLIKULSKA TEČNOST
- ***SVI OVI SEKRETI TREBA DA OBEZBEDE DOLAZAK VITALNIH S-ZIDA DO MESTA OPLODNJE***

SEKRET EPIDIDIMISA

- 1-2 NEDELJE PRE EJAKULACIJE
- MATURACIJA S-ZIDA

- RESORPCIJA **90%** VODE
- SEKRECIJA I RESORPCIJA POJEDINIH SASTOJAKA
- JEDAN DEO OVOG SEKRETA ULAZI U SASTAV SEMENE PLAZME

SEMENA PLAZMA

- 5 % IZ PROKSIMALNIH PARTIJA M-GT
- 95 % SEKRET AKCESORNIH POLNIH ŽLEZDA

OSNOVNE FUNKCIJE

1. ODRŽAVANJE pH
2. OBEZBEĐIVANJE ENERGIJE – FRUKTOZA
3. ZAŠTITA OD OKSIDATIVNIH OŠTEĆENJA
4. OPTIMALNA ZAPREMINA

SP JE IZUZETNO SLOŽEN SEKRET

1. VELIKI BROJ RAZLIČITIH **PROTEINSKIH MOLEKULA**
2. VISOKA KONCENTRACIJA **PROSTAGLANDINA** (KOD LJUDI)
3. VISOKA KONCENTRACIJA **ERGOTIONINA**
4. SADRŽI MOLEKULE KOJIH **NEMA U DRUGIM TELESNIM TEČNOSTIMA**

ZAŠTO JE NEŠTO TAKO SLOŽENO AKO SU FUNKCIJE JEDNOSTAVNE?

- **IMUNOSUPRESIJA**
- **1% SP U FINALNOJ KONCENTRACIJI INHIBIRA PROLIFERACIJU LIMFOCITA 99 % KOD SVIH ISPITIVANIH VRSTA**
- **ČAK DELUJE I IZMEĐU VRSTA**
- **SP JE CITOTOKSIČNA U MALIM RAZBLAŽENJIMA**

DELOVANJE SP NA ČELIJE I MOLEKULE IS

ČELIJA META	SUPRIMIRANA FUNKCIJA
B LIMFOCITI	PRIMARNI I SEKUNDARNI ODGOVOR NA TIMUS ZAVISNE I NEZAVISNE Ag, PROLIFERATIVNI ODGOVOR
T LIMFOCITI	PROLIFERATIVNI ODGOVOR, INDUKCIJA CITOTOKSIČNIH ČELIJA, INDUKCIJA KASNE PREOSETLJIVOSTI
NK I LAK	SPOSOBNOST LIZIRANJA STIMULACIJA SA IL-2
Ne	HEMOTAKSA, FAGOCITOZA, STVARANJE ROS, FAGOCITOZA S-ZIDA
Mo i Mf	STVARANJE ROS, FAGOCITOZA KVASACA, OPSONIZACIJA BAKTERIJA, ADHEZIJA
OSTALE ČELIJE	ČELIJSKA CITOTOKSIČNOST, AKTIVACIJA KOMPLEMENTA ALT. PUTEM, KOMPLEMENTOM POSREDOVANA LIZA

NEKE KOMPONENTE SP MOGU DA STIMULIŠU IMUNSKI SISTEM

- 1. STIMULACIJA SUPRESORSKIH T Ly**
- 2. STIMULACIJA B Ly PRI INFEKCIJI EB VIRUSOM**
- 3. STIMULACIJA HEMOTAKSE Ne**
- 4. POJEDINE FRAKCIJE MOGU DA STIMULIŠU
PROLIFERATIVNI ODGOVOR Ly**

IMUNOSUPRESIVNI FAKTORI IZ SP LJUDI

PROSTAZOMI	
CITOKINI	MOLEKUL SLIČAN $TGF\alpha$, $TGF\beta$, $IL-1\beta$, $IL-8$ I $IL-2R$
ENZIMI	TRANGLUTAMINAZA, PROTEAZE, RIBONUKLEAZA (s RNA-ZA)
PROTEINI VELIKE MM	LAKTOFERIN, INHIBITORI KOMPLEMENTA,
PROTEINI MALE MM	$\beta 2$ MIKROGLOBULIN,
RECEPTORI ZA Fc	$FcR\gamma III$
MOLEKULI KOJI SE VEZUJU ZA Fc	IgG VEZUJUĆI PROTEINI
Zn I MOLEKULI KOJI GA VEZUJU	VEZUJUĆI MOLEKULI 2 I 200 kDa
PROSTAGLANDINI	PGE_1 , PGE_2 , 19-OH PGE_1 , 19-OH PGE_2 ,
POLIAMINI	SPERMIN I SPERMIDIN

SOPSTVENI PODACI

**1. PROSTAZOMI –INHIBICIJA PROLIFERACIJE
LIMFOCITA 1995.**

**2. INHIBICIJA AKTIVACIJE SISTEMA
KOMPLEMENTA 1991.**

**3. INHIBICIJA PRECIPITACIJE IMUNIH
KOMPLEKSA 1991.**

**4. INHIBICIJA REPLIKACIJE VIRUSA BHV-1,
EHV-1BVD I AUJECKI *IN VITRO* 1997.**

CERVIKALNA SLUZ

- **BARIJERA KOD ŽIVOTINJA SA VAGINALNIM TIPOM DEPONOVANJA SEMENA**
- **SELEKTIVNI FILTER**
- **Ig A**
- **UKLANJA OŠTEĆENE S-ZIDE**

MATERIČNI SEKRET I FOLIKULSKA TEČNOST

- **Ig KOJI SE VEZUJU Fc FRAGMENTOM ZA S-ZIDE I POKRIVAJU RELEVANTNE Ag**
- **IMUNOSUPRESIVNI SASTOJCI**
- **LEUKOLITIČKO DELOVANJE**
- **SUPRIMIRA AKTIVNOST HOMOLOGIH Le**
- **FOLIKULSKA TEČNOST SADRŽI SVE KOMPONENTE SISTEMA KOMPLEMENTA**

ZNAČAJ Ag S-ZIDA

- NEPLODNOST
- VEŠTAČKA OPLODNJA
- EMBRIOTRANSFER
- TRANSPLANTACIJA TKIVA
- HIV - INFEKCIJA
- KONTRACEPTIVNE VAKCINE

- **IMUNSKI SISTEM ŽENKI SISARA MORA DA "ZATVORI OČI" PRED Ag OCA**
- **OVI Ag SE NALAZE I NA S-ZIDIMA I EMBRIONALNIM OMOTAČIMA**
- **MATERICA PRI TOME NIJE IMUNOLOŠKI PRIVILEGOVAN ORGAN**
- **KOD MUŽJAKA JE MOGUĆA AUTOIMUNIZACIJA Ag S-ZIDA**

KARAKTERISTIKE ANTIGENA SPERMATOZOIDA

- S-ZIDI SE U ONTOGENEZI POJAVLJUJU KASNO
- **BARIJERA KRV-TESTIS** - SERTOLIJEVE ČELIJE
- Ag S-ZIDA SU "**SKRIVENI ANTIGENI**"
- **SUPRESORSKI T_H17** U SUBMUKOZI SPROVODNIH KANALA MGT
- "**IZBEGAVANJE**" SEMENIKA PRI RECIRKULACIJI LIMFOCITA.
- 50% S-ZIDA U EPIDIDIMISU PODLEŽE **ENZIMSKOJ DESTRUKCIJI**
- Ag ZBOG TOGA **NE DOSPEVAJU** U CIRKULACIJU

MEMBRANA S-ZIDA

- **HETEROGENA I SLOŽENA STRUKTURA**
- **NJENI MOLEKULI IMAJU KLJUČNU ULOGU U TRANSPORTU, KRETANJU I OPLOĐENJU**
- **MONOKLONSKA ANTITELA I IIF**

U GENITALNIM ORGANIMA ŽENKI S-ZIDI USLED KRETANJA I PROLASKA KROZ CS:

1. **GUBE** PROTEINSKI OMOTAČ
 2. STALNO **MENJAJU** Ag STRUKTURU
 3. ISPOLJAVAJU **RAZLIČITE** Ag NA SVOJOJ
POVRŠINI
- => **MANJA VEROVATNOĆA** ZA NASTANAK
ŠTETNIH ANTITELA

SLIČNE PROMENE POSTOJE I PRI PROLASKU S-ZIDA KROZ SPROVODNE KANALE MGT

- SPERMATOZOIDI IZ SEMENIKA IMAJU **VEĆU IMUNOGENOST**
- ONI SU ČAK IMUNOGENI U OKVIRU **ISTE VRSTE**
- **TO NIJE SLUČAJ SA SPERMATOZOIDIMA IZ EJAKULATA**

- SASTOJCI ADSORBOVANI NA POVRŠINI S-ZIDA **SMANJUJU** NJIHOVU IMUNOGENOST
- IZOIMUNIZACIJA S-ZIDIMA IZ EPIDIDIMISA IMA TEŽE POSLEDICE PO REPRODUKCIJU NEGO IMUNIZACIJA ĆELIJAMA IZ EJAKULATA
- UGLAVNOM NASTAJE **RANA SMRTNOST EMBRIONA**

Ag S-ZIDA SE GRUPIŠU NA OSNOVU LOKALIZACIJE:

POVRŠINSKI Ag - GLIKOPROTEINI

- PH-20, PH-30 (FERTILIN), P86/5,
- M 42, M 29, FA 1, S 19,
- AUTOANTIGENI SPERMATOZOIDA KUNIČA i
- ENZIM LDH-C4.

Ag AKROZOMA:

- AKROZIN, SP-10 I GB 24

NUKLEARNI Ag:

- PROTAMIN - NASP (ENGL. NUCLEAR AUTOANTIGENIC SPERM PROTEIN)

FLAGELARNI ANTIGENI:

- S69/S70 i AGX.

SAMO **POVRŠINSKI Ag** IMAJU ULOGU U NASTANKU IMUNOLOŠKOG STERILITETA I SUBFERTILITETA

SASTOJCI SEMENE PLAZME:

1. **NEMAJU** IZRAŽENU ANTIGENOST
2. **MASKIRAJU** GLAVNE Ag S-ZIDA
3. ISPOLJAVAJU **DIREKTNO INHIBITORNO**
DELOVANJE NA ĆELIJE I MOLEKULE
IMUNSKOG SISTEMA

SCA (SPERMATOZOA COATING ANTIGEN)

- **IZOLOVAN IZ SP LJUDI I KUNIĆA**
- **β GLOBULIN KOJI SADRŽI Fe**
- **IDENTIČAN JE U Ag SMISLU SA LAKTOFERINOM**
- **ADSORBUJE SE NA POVRŠINU S-ZIDA**
- **ŽENKE NA NJEGA **NE REAGUJU** STVARANJEM At**
- **IMA SPOSOBNOST DA INAKTIVIŠE KOMPLEMENT**

- NA POVRŠINI S-ZIDA SU I Ag KRVNIH GRUPA KOJI NEMAJU UTICAJA NA PLODNOŠT
 - U SP KUNIĆA POSTOJI ENZIM **TRANSGLUTAMINAZA**
 - REAGUJE SA α 2 MAKROGLOBULINIMA SA POVRŠINE S-ZIDA
- ⇒ KONFORMACIONE PROMENE I PROMENA Ag STRUKTURE
- KOD BIKOVA POSTOJE 4 Ag KOJI REAGUJU SA ANTITELIMA
 - SP2A5, SP1A2, SP1C4 I SP1C6
 - NISU DOKAZANI NA S-ZIDIMA IZ EPIDIDIMISA VEĆ SAMO U SEMENOJ PLAZMI

- U SERUMU I CS SLUZI ŽENA SA NEPLODNOŠĆU NEPOZNATE ETIOLOGIJE POSTOJE **ANTITELA NA GLIKOPROTEIN S-ZIDA FA – 1** NEOPHODAN ZA FERTILIZACIJU
- KOD BIKOVA U MEMBRANI S-ZIDA POSTOJE PROTEINI KOJI MOGU DA VEZUJU HEPARIN (**HEPARIN-BINDING PROTEINS – HBP**)
- ONI IMAJU ZNAČAJNU ULOGU U PROCESU FERTILIZACIJE

VEZIVANJE HEPARINA SE DOVODI U DIREKTNU VEZU SA AKROZOMSKOM REAKCIJOM

U SERUMU KRAVA KOJE POVAĐAJU JE ELISA TEHNIKOM ODREĐIVANO PRUSUSTVO At PROTIV 16 RAZLIČITIH POLIPEPTIDA IZOLOVANIH IZ ISPRANIH SPERMATOZOIDA BIKOVA

KOD VEĆINE OVIH PLOTKINJA POSTOJE At NA SAMO DVA OD OVIH POLIPEPTIDA

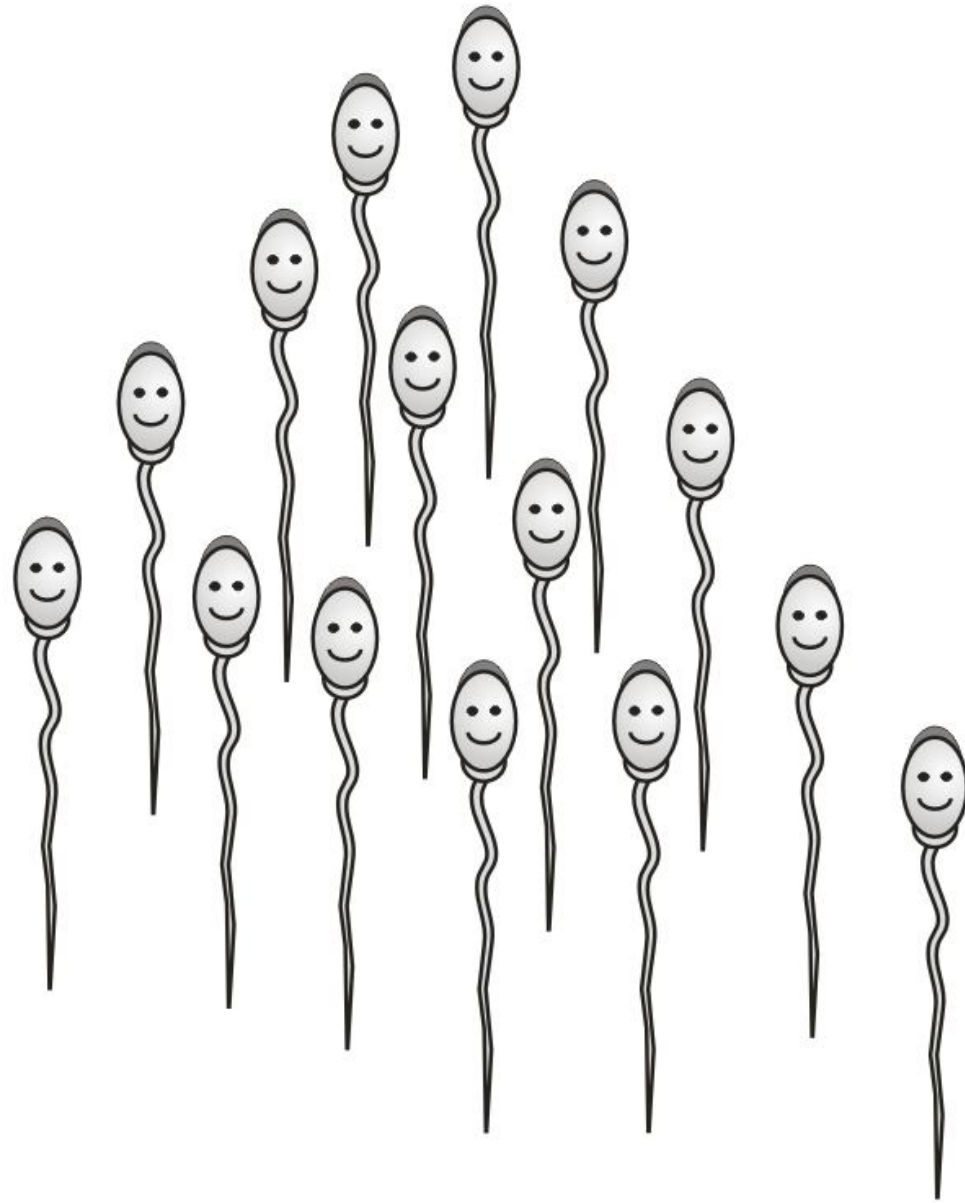
- U TOKU PRIPREME S-ZIDA ZA VO DOLAZI DO **PROMENA NJIHOVE ANTIGENSKE STRUKTURE**
- **"SWIM UP"** METOD ZA IZDVAJANJE NAJVITALNIJIH SPERMATOZOIDA
- PRI TOME SE PRAKTIČNO GUBI SP
- POSLE VIŠEKRATNIH VO KOD ŽENA NASTAJU **CITOTOKSIČNA ANTITELA**
- OVO JE POSLEDICA GUBITKA IMUNOSUPRESIVNIH SUPSTANCI IZ SP

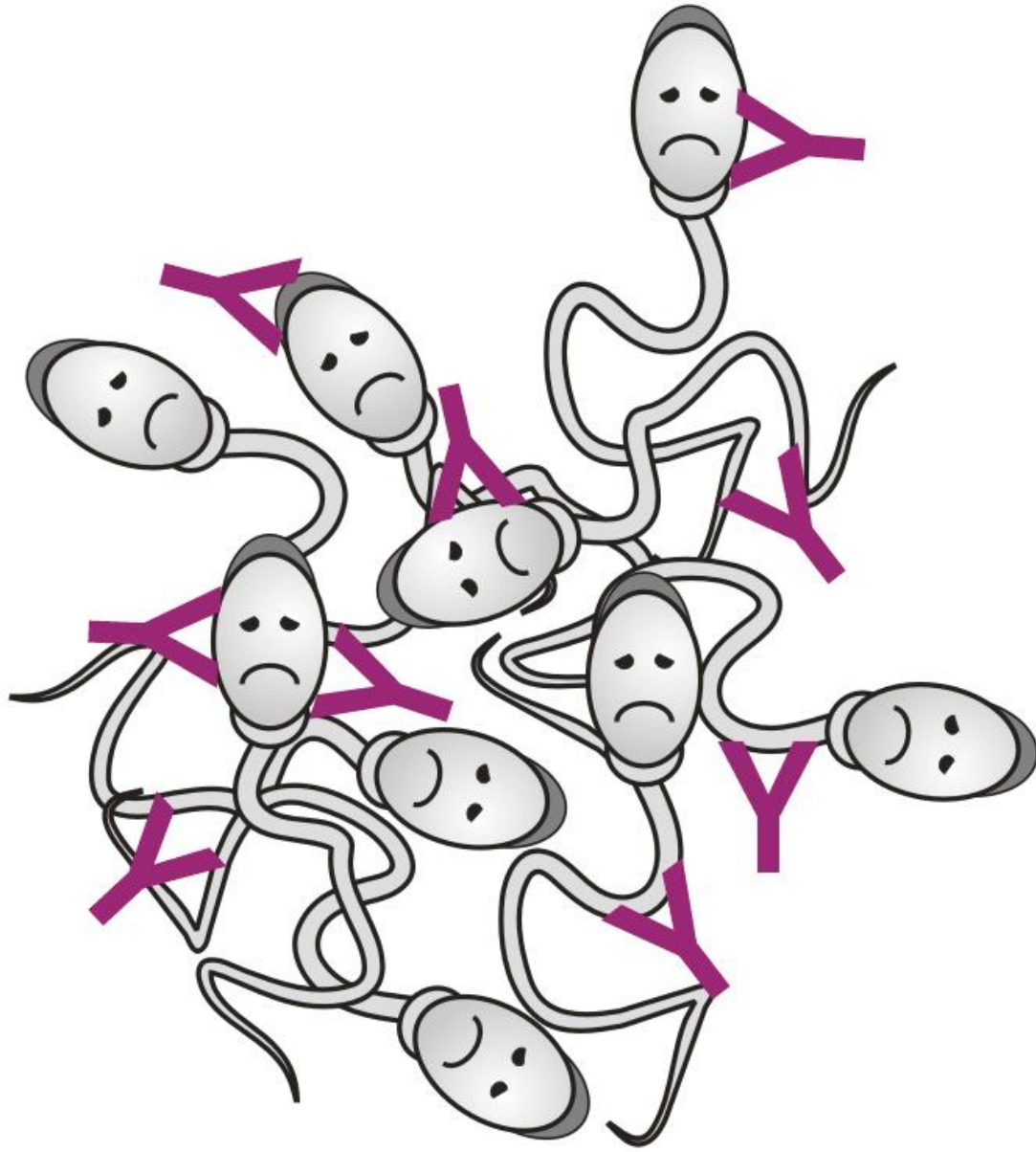
ANTITELA NA ANTIGENE SPERMATOZOIDA

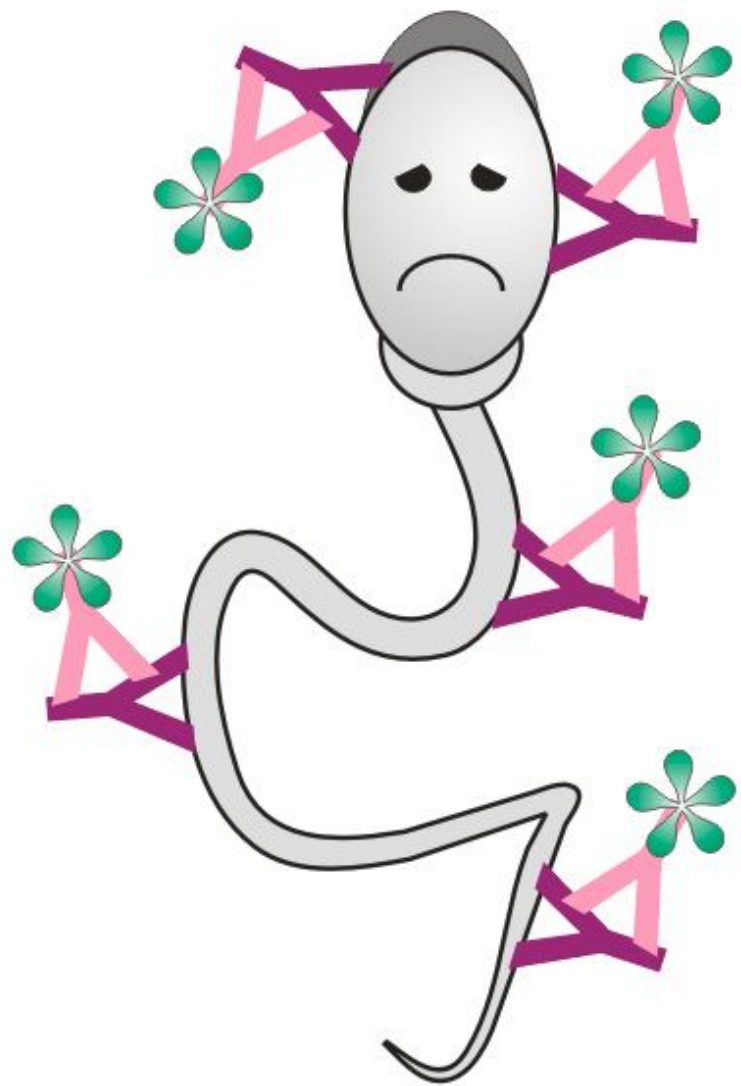
1. IMOBILIZACIJA
2. AGLUTINACIJA
3. CITOTOKSIČNI EFEKTI

1. CERVIKALNA SLUZ
2. DRUGI SEKRETI GENITALNOG TRAKTA
3. FOLIKULSKA TEČNOST
4. SERUM

- OTEŽAVAJU TRANSPORT KROZ ŽGT (**IMOBILIZACIJA**)
- SMANJUJU BROJ S-ZIDA KOJI STIŽU U JAJOVOD (**AGLUTINACIJA**)







VO SE USPEŠNO SE PRIMENJUJE U VETERINARSKOJ MEDICINI VEĆ VIŠE DECENIJA:

- **ŠIRENJE GENOMA VISOKOKVALITETNIH GRILA U POPULACIJI**
- **BRŽE POPRAVLJANJE RASNOG SASTAVA**
- **ISKORENJIVANJE ZARAZNIH BOLESTI**

TEHNOLOGIJA PRIPREME SEMENA BIKA ZA VO

- RAZREĐIVANJE EJAKULATA
 - HLAĐENJE - EKVILIBRACIJA
 - DUBOKO ZAMRZAVANJE U TEČNOM AZOTU
(-196 °C)
- => PROMENE U Ag STRUKTURI

- RAZREĐIVAČI ČESTO SADRŽE ŽUMANCE KAO KRIOPROTEKTORNU SUPSTANCU
- ONO IMA BROJNE Ag NA KOJE PLOTKINJE MOGU REAGOVATI
- POJEDINI FOSFOLIPIDI IZ ŽUMANCETA SE ČVRSTO UGRAĐUJU U MEMBRANU S-ZIDA I NE MOGU SE ODVOJITI BEZ OŠTEĆENJA ĆELIJA
- SP **SE RAZREĐUJE** U VELIKOJ MERI
- **SMANJUJE SE KOLIČINA** IMUNOSUPRESIVNIH SUPSTANCI U OKRUŽENJU S-ZIDA
- VEROVATNOĆA ZA NASTANAK At JE VEĆA PRI VO NEGO PRI PRIRODNOM SPARIVANJU

- REZULTATI VO KRAVA SU JOŠ UVEK SLABIJI OD OČEKIVANIH
- DO SADA NIJE USTANOVljena **JASNA KORELACIJA** IZMEĐU PRISUSTVA ANTISPERMATOZOALNIH ANTITELA I **SUBFERTILITETA** PLOTKINJA
- PLOTKINJE SA **BEZSIMPTOMSKIM** SUBFERTILITETOM NISU NEPLodne I PRI PRIRODNOM PARENJU LAKŠE KONCIPIRAJU
- POSTOJI I MOGUĆNOST DA POJEDINE KOMPONENTE IZ SASTAVA RAZREĐIVAČA MOGU SAMO DA **MASKIRAJU** PROTEINE RELEVANTNE ZA FERTILIZACIJU

PRIMEDBE:

- 1. ODREĐIVAN JE TITAR At PROTIV NATIVNIH SPERMATOZOIDA**
- 2. ANALIZIRAN JE KRVNI SERUM**
- 3. BROJ ISPITANIH ŽIVOTINJA JE PO PRAVILU BIO MALI**

- U SERUMU **3% KRAVA** SA NORMALNIM REPRODUKTIVNIM POKAZATELJIMA NALAZE SE ANTITELA PROTIV Ag ŽUMANJČANOG RAZREĐIVAČA
- U GRUPI KRAVA KOJE POVAĐAJU Taj procenat je **29**
- **67% KRAVA** KOJE POVAĐAJU IMA U CERVİKALNOJ SLUZI ANTITELA NA ANTIGENE RAZREĐIVAČA
- STIČE SE UTISAK DA SE POJEDINE JEDINKE "**OPIRU**" VO
- IZRAŽENA LOKALNA AKTIVNOST IMUNSKOG SISTEMA?

**POSTOJI OPRAVDANA SUMNJA NA IMUNOLOŠKI
SUBFERTILITET ALI JOŠ NEMA DOVOLJNO
UBEDLJIVIH DOKAZA ZA NJEGOVO POSTOJANJE**

- **UZORCI CS U FAZI ESTRUSA SU RAZREĐENI ZBOG
POVEĆANOG SADRŽAJA VODE**
- **STEPEN OVE DILUCIJE SE NE MOŽE PREDVIDETI A
MOŽE **ZNAČAJNO** DA UTIČE NA DOBIJENE REZULTATE**
- **U SERUMU FERTILNIH ŽENKI RAZLIČITIH VRSTA
MOGU SE DOKAZATI ANTITELA NA Ag S-ZIDA KOJA **NE**
OMETAJU REPRODUKCIJU A DOSPEVAJU U SEKRET
UTERUSA**

**OVA ANTITELA SE VEZUJU ZA NEPOKRETNE
SPERMATOZOIDE (ILI MOŽDA DOVODE DO TOGA
DA ONI POSTANU NEPOKRETNI ?)**

**NA SPERMATOZOIDIMA VELIKE
POKRETLJIVOSTI NEMA OVIH At**

**ONA MOŽDA DOPRINOSE EFIKASNIJEM
UKLANJANJU S-ZIDA IZ ŽGT I USPOSTAVLJANJU
SPECIFIČNE IMUNSKJE TOLERANCIJE**

NEKA A_t SE VEZUJU ZA S-ZIDE F_c FRAGMENTOM I TAKO IH ŠTITE

- **U SERUMU 90% DEČAKA I DEVOJČICA PRE PUBERTETA OTKRIVAJU SE A_t PROTIV S-ZIDA USMERENA NA INTRACELULARNE Ag**
- **SERUMI DECE I PLODNIH ŽENA SADRŽE A_t U NISKOM TITRU (DO 1:16)**
- **KOD ŽENA SA NEPLODNOŠĆU NEPOZNATE ETIOLOGIJE SU OVA A_t PRISUTNA U ZNATNO VEĆOJ KONCENTRACIJI**

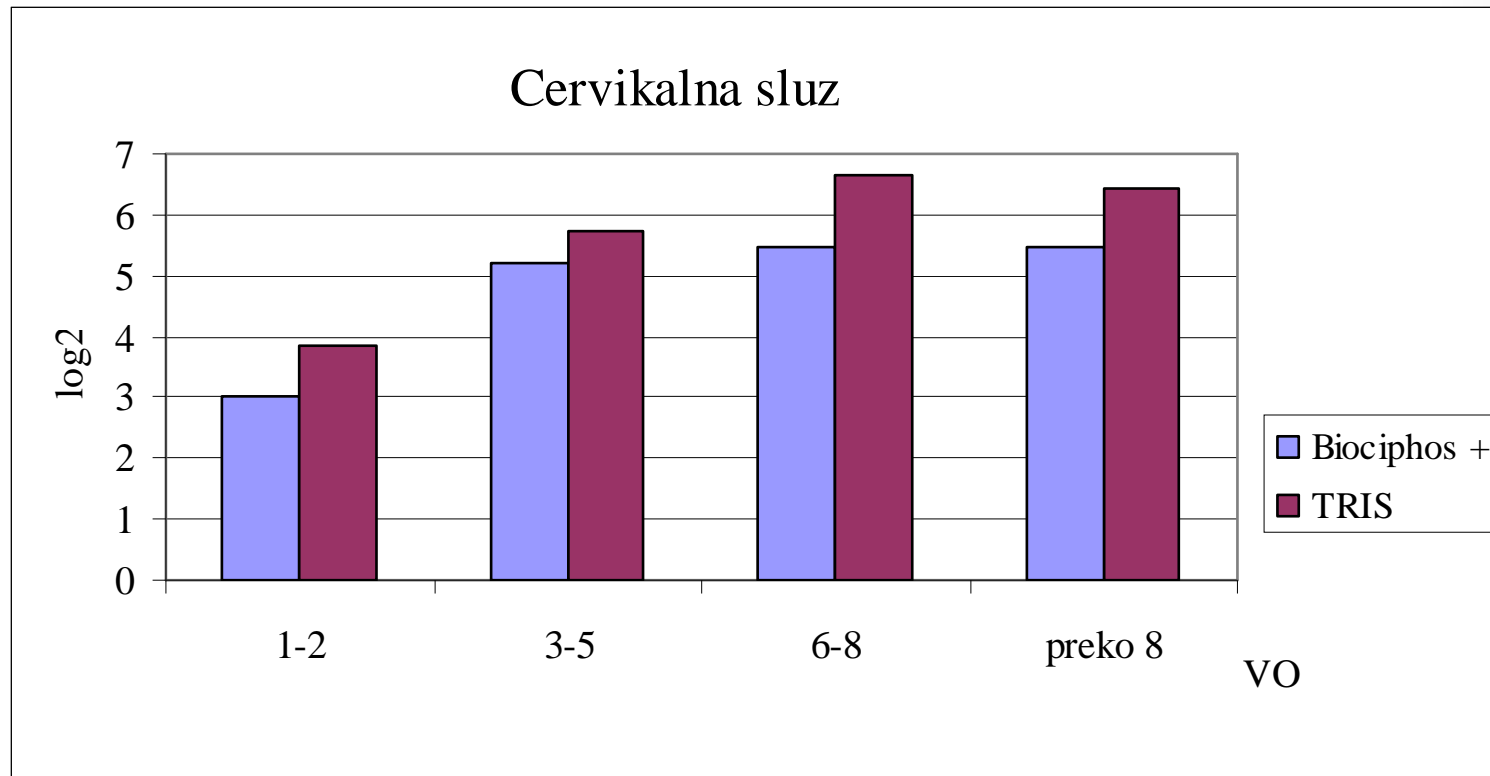
- U UZORCIMA SERUMA TELADI PRE UZIMANJA KOLOSTRUMA MI NISMO DOKAZALI PRISUSTVO ANTITELA PROTIV SPERMATOZOIDA
- ANTITELA Ig G KLASE PROTIV Ag S-ZIDA DOKAZALI SMO TEK U UZORCIMA DOBIJENIM 48 SATA ŽIVOTA I NJIHOV TITAR SE POVEĆAVAO SA STAROŠĆU TELADI
- SKORO SVI UZORCI DOBIJENI OD TELADI STARE 4 MESECA IMALI SU ANTITELA OVE SPECIFIČNOSTI
- TAKOĐE SMO DOKAZALI I At **Ig M KLASE** PROTIV ANTIGENA SPERMATOZOIDA ALI U ZNAČAJNO NIŽEM TITRU

- **NAJNIŽE VREDNOSTI TITRA SU REGISTROVANE SA NATIVNIM SPERMATOZOIDIMA A NAJVEĆE SA SPERMATOZOIDIMA SUSPENDOVANIM U TRIS - ŽUMANJČANOM RAZREĐIVAČU**
- **GENERALNO - VREDNOSTI TITRA OVIH A_t SU BILE NISKE**

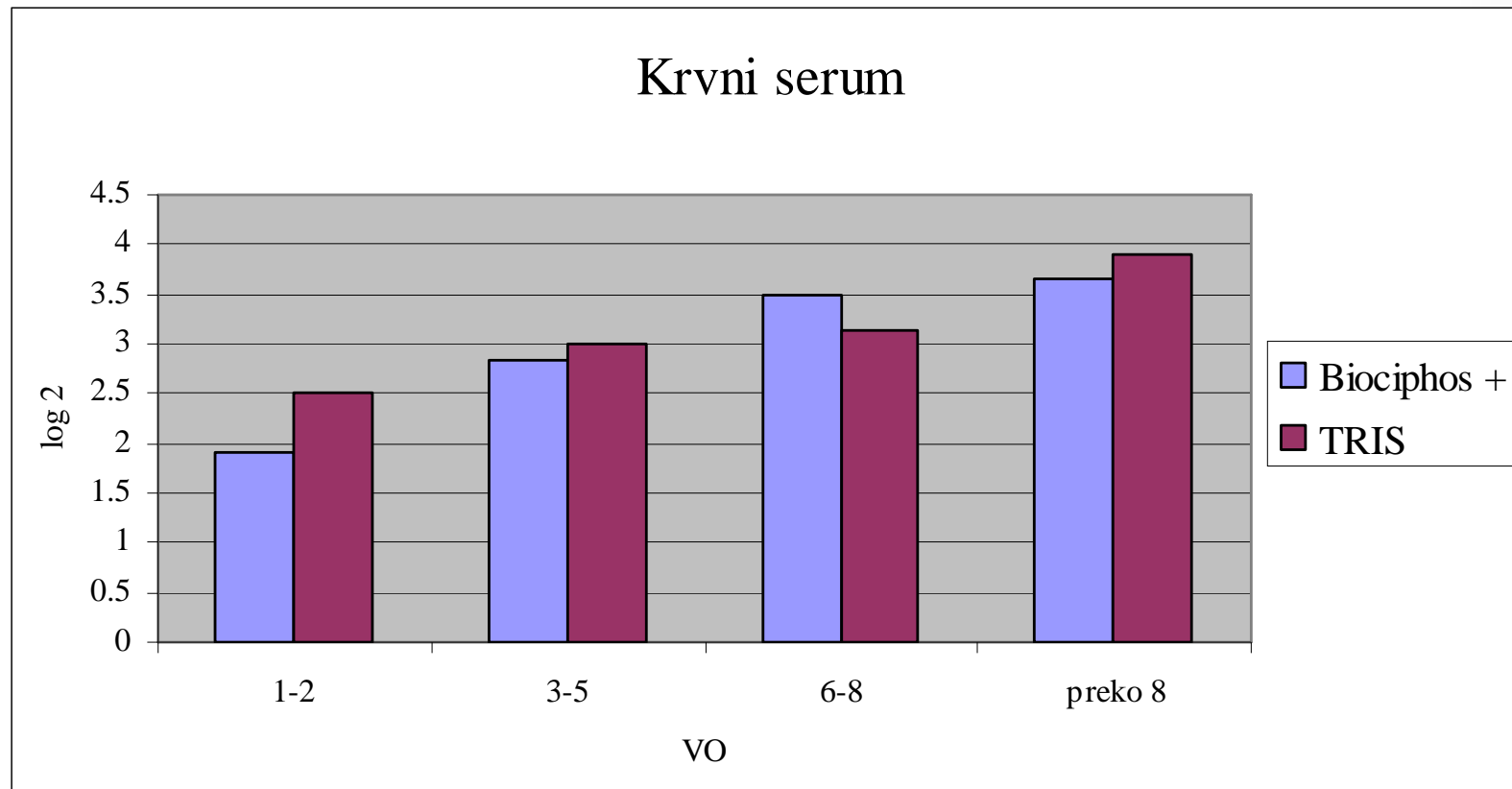
- U RANIJIM ISPITIVANJIMA MI SMO DOKAZALI DA JE PORAST VREDNOSTI TITRA SPERMAGLUTININA U KRVNOM SERUMU ISPITIVANIH PLOTKINJA **PROPORCIONALAN BROJU VO**
- STEPEN AGLUTINACIJE S-ZIDA ANTITELIMA IZ KRVNOG SERUMA I CERVİKALNE SLUZI JUNICA I KRAVA U VEĆINI UZORAKA **SE ZNAČAJNO SMANJUJE** KADA SE ZA IZVOĐENJE TESTA UPOTREBE SPERMATOZOIDI PRETHODNO SUSPENDOVANI U RAZREĐIVAČU KOJI **NE SADRŽI** ANIMALNE PROTEINE

**NAŠI REZULTATI UKAZUJU DA
POSTOJI KORELACIJA IZMEĐU
PRISUSTVA ANTITELA Ig A KLAZE
U CERVIKALNOJ SLUZI I BROJA VO**

Ig A - CERVIKALNA SLUZ



Ig A - KRVNI SERUM



- BEZ OBZIRA NA PORAST TITRA A_t OVE PLOTKINJE SU UGLAVNOM **SUBFERTILNE**
- U PRIRODNOM PRIPUSTU NJHOVI REPRODUKTIVNI REZULTATI SE VIDNO **POPRAVLJAJU**
- KRAVE KOJE POVAĐAJU TREBA OSEMENJAVATI **SVEŽIM SEMENOM** BIKOVA
- U TEHNOLOGIJI PRIPREME SEMENA ZA VO TREBA PRIMENJIVATI **RAZLIČITE RAZREĐIVAČE** I
- U SLUČAJEVIMA POVAĐANJA KORISTITI SEME RAZREĐENO U ONOM RAZREĐIVAČU KOJI DO TADA **NIJE BIO KORIŠĆEN**
- OVAJ FENOMEN JE POSEBNO IZRAŽEN KOD **VISOKO MLEČNIH KRAVA** KOJE SU U MOMENTU PRVIH OSEMENJAVANJA POSLE PARTUSA U **NEGATIVNOM ENERGETSKOM BILANSU**
- TO SAMO PO SEBI SMANJUJE **VEROVATNOĆU OPLODNJE** A UPRAVO TADA SE **PONAVLJAJU** POKUŠAJI VO

**POSTOJE REALNE ŠANSE
DA OVAKAV PRISTUP DOVEDE DO
BOLJIH REPRODUKTIVNIH
REZULTATA MLEČNIH KRAVA**