

Kapasitasyonun Moleküler Temelleri

*Yük. Lis. Öğr. Gülfidan ZÜLFİKAROĞLU
Yrd.Doç.Dr. Hülya ÖZGÜR
Prof.Dr. Sait POLAT*

1.SPERMATOGENEZ

Erkek ve dişi gametler; gebeliğin 4. haftasında yolk kesesi duvarı endoderminden gelişerek, gonad taslaklarına doğru ilerleyen primordial germ hücrelerinden köken alırlar ve gonadlarda bir dizi mitotik bölünme geçirerek sayılarını artırırlar^{1,2,3}.

Puberteden hemen önce gonad taslaklarındaki seks kordonları, seminiferöz tübül halini alırken, primordial germ hücreleri (stem hücreler) de seminiferöz tübül bazal membranı üzerindeki diploid germ hücreleri olan spermatogonyumlara farklılıklar. Puberteye kadar bölünmeden kalan spermatogonyumlar, pubertede başlayan spermatogenezle birlikte seminiferöz epitelin kök (stem) hücreleri olan, Tip A koyu spermatogonyumları oluştururlar. Yoğun bazofilik ve ince granüler kromatinli oval çekirdeğe sahip, Tip A koyu spermatogonyumların bir kısmı kök hücre olarak kalırken, bir kısmı da soluk boyanan ince granüler kromatinli çekirdeğe sahip Tip A açık spermatogonyumlara farklılıklar. Tip A açık spermatogonyumların bir kısmı mitoz bölünme geçirerek, merkezi yerleşimli çekirdekçiğe sahip sferikal çekirdekli Tip B spermatogonyumları oluştururlar. Tip B spermatogonyumların mitoz bölünmeleri sonucu; seminiferöz tübülün en büyük germ hücreleri olan sferikal veya ovoid şekilli, primer spermatositler (4n DNA) meydana gelir. Her bir primer spermatosit ise yaklaşık 22 gün süren profaz evresinde leptoten, pakiten, diploten ve diakinez safhalarına ulaşır, kromozom ayrılması ve crossing over'ın gerçekleşmesiyle metafaza girerler. Metafazı takip eden

* Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, ADANA

anafazda, kromozomların karşı kutuplara ilerlemesiyle 1. Mayoz bölünmeyi tamamlarlar ve iki adet sekonder spermatozoid ($2n$ DNA) oluştururlar. Sekonder spermatozoidler de 2. Mayoz bölünmeyi geçirerek, spermatidleri meydana getirirler. Sertoli hücre çöküntülerine yerleşmiş spermatidler, haploid kromozomlu olup, yoğunlaşmış kromatin bölgeleri içeren çekirdeklere sahiptirler^{1,2,3,4}.

Farklanma sürecindeki spermatogonyumlar ve spermatidler Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarındaki girinti ve çıkıntılara gömülü halde, birbirlerine protoplazmik köprülerle bağlı halde bulunurlar. Olgunlaşma dereceleri seminiferöz tübüllerin bazalinden apeksine doğru artar. Spermatogonyumlardan spermatidlerin oluşmasıyla tamamlanan spermatogenezin son aşaması olan spermiyogenez adı verilen farklılaşma sürecinde, spermatidler spermatozoonlar halini alırlar^{1,2,3,4}.

2. SPERMİYOGENEZ

Spermatogenez sonucu oluşan spermatidlerin spermatozoonlara dönüşebilmek için geçirdiği değişimlerin tümüne "spermiyogenez" adı verilir ve bu değişiklikler 4 evrede gerçekleşir^{2,3,4}.

1. Golgi Evresi:

Spermatidin sitoplazması; çekirdek yakınında belirgin bir Golgi kompleksi, mitokondriyonlar, bir çift sentriol, serbest ribozomlar ve düz endoplazmik retikulum tübüleri içerir. Spermatidin, endoplazmik retikulumunda üretilen hidrolitik enzimler Golgi kompleksine iletilip, çeşitli değişiklikler geçirerek Golgi kompleksinin trans yüzünden "proakrozomal granül" adı verilen PAS(+) granüller halinde salınırlar. Bu granüllerin birleşmesiyle oluşan akrozomal veziküller, çekirdek zarına yapışık halde olup, aynı spermin ön kutbunu belirlerler. Bu evrede sentrioller, çekirdek bölgesinden uzaklaşırlar. Bir tanesi flagellumun aksonemini (9 çift periferde, 2 tane merkezde mikrotubulus yapısı içeren, kuyruk iskeleti) oluşturmak üzere akrozomal bölgenin karşı kutbunda konumlanır .

2. Şapka Evresi:

Akrozomal vezikül genişleyerek büyür, çekirdekle temas ettiği yerden başlayarak, çekirdeğin ön kısmını yarıya kadar bir başlık gibi sarar. Akrozomal vezikül son büyüklüğüne ulaştığında hidrolitik enzimleri içeren “akrozom” adını alır.

3. Akrozom Evresi:

Özel bir tip lizozom olarak kabul edilen akrozom içerisinde hyalüronidaz, akrozin, nöraminidaz, asit fosfataz ve tripsin benzeri proteazlar gibi hidrolitik enzimler yer alır. Oosit plazma membranı ile sperm dış akrozomal membranının birleşmesiyle ekzositoz sonucu hidrolitik veziküller dış ortama salınır. Hyalüronidaz spermin, korona radiata tabakasını geçmesine yol açarken, akrozin ve tripsin benzeri proteazlar ise zona pellusidayı eriterek, akrozom reaksiyonu olarak bilinen fertilizasyonun ilk basamağının gerçekleşmesini sağlarlar. Koyu renkli, küçük, armut şekilli çekirdeğin, distalindeki sentriolden çıkan mikrotübüller, flagellumu oluşturacak olan aksonemi meydana getirir. Mitokondriyonların, flagellum proksimal parçasını çevrelemesiyle, spermatozoon hareketliliğini sağlayan sperm orta parçası gelişir.

4. Maturasyon (Olgunlaşma) Evresi:

Spermatidlerin arasındaki protoplazmik köprülerin ortadan kalkmasıyla oluşan “artık cisimcik” adı verilen fazla sitoplazmik kısımlar, Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilirler. Spermatitteki değişiklikler sonucu; seminiferöz tübül lümenine atılan ancak hareket ve dölleme yetenekleri olmayan, türe has genetik özellikleri taşıyan olgun spermatozoonlar gelişir^{2,3,4,5}.

2.1. OLGUN SPERM

Altmış beş-yetmiş iki gün süren spermiyogenez sonucu spermiyasyon olayıyla Sertoli hücrelerinden ayrılıp, seminiferöz tübül lümenine geçen spermatozoonlar, morfolojik olarak olgun germ hücresi olmasına rağmen, fonksiyonel olarak henüz olgun değildir. Hareket yeteneklerini yardımcı bezlerin salgıları ile duktus epididimiste ve dölleme yeteneklerini dişi genital

kanallarında kapasitasyon geçirerek kazanırlar.

Tamamen olgunlaşan sperm; baş, orta parça ve kuyruk olmak üzere 3 parçadan oluşur. Baş bölgesi anterior yarısına kadar akrozomla sarılı olup yoğun kromatin içeren yassı şekilli bir çekirdek içerir. Baş bölgesini kuyruk bölgesine bağlayan bir çift sentriolün bulunduğu boyun bölgesinden başlayan aksonem, kuyruk boyunca uzanırken, özellikle boyun bölgesinde çok sayıda mitokondriyon ile çevrilidir. Boyun bölgesinin son kısmında spermin hareketinde rol alan “annulus” adı verilen bir kalınlaşma yer alır. Yapısal olarak silyuma benzeyen spermin en uzun parçası olan kuyruk 3 parçadan oluşmuştur; orta parça, esas parça, son parça. Orta parça; sarmal dizilmiş mitokondriyonların oluşturduğu bir tabaka, 9+2 mikrotübüler aksonem ve spermin boynundan başlayıp kuyruk boyunca uzanan, dokuz adet dış yoğun lifler adı verilen filamandan meydana gelmiştir. Kuyruğun en uzun parçası olan esas parça, yedi dış yoğun lifle sarılı merkezi aksonem ve bir fibröz kılıftan oluşmaktadır. Dış yoğun lifler ve fibröz kılıf spermin öne hareketi sırasında mikrotübüler kayma ve kıvrılma için sağlam bir iskelet oluşturan keratin proteinlerini bulundurmaktadır. Kuyruğun en kısa parçası olan son parça ise dış yoğun lifler ve fibröz kılıfın sonlanması nedeniyle sadece aksonem içerir^{2,3,4,5}.

3. SPERM MEMBRANI

Sperm membranı; protein, lipid ve karbonhidrat yapısındadır. Lipidlerin esas görevi membran yapısını oluşturarak stabilizasyonunu sağlamak, kapasitasyon, akrozom reaksiyonu ve oosit-sperm füzyonunda rol almaktır. İnsan spermatozoonları; yüksek oranda fosfotidil kolin, fosfotidil etanolamin ve sfingomiyelin içerir^{6,7,8}. Fosfolipidlerle birlikte kolesterol sperm membranının bütünlüğünü ve impermeabilitesini sağlar. Sperm membranının yapısında, mannoz ve glukoz gibi monosakkaridler ile disakkaridler bulunur. Tirozin, triptofan ve histidin ise esas aminoasit yapısını oluşturmaktadır.

Spermatozoonların membranında; spesifik antijenler (tirozin kinaz sp 95, proakrozin, PH-20, PH-30, sp 56, galaktozilt galaktoziltransferaz,

spermadezinler, progesteron reseptörü) dışında, hücre-hücre ya da hücre-matriks etkileşimini yürüten nonspesifik proteinler, matriks proteinleri ile (kollajen, fibronektin, laminin, adezyon molekülleri) birlikte⁹, immünoglobülinler, kaderinler, selektinler ve integrinler gibi adezyon moleküllerinin de yer aldığı gösterilmiştir¹⁰.

4. KAPASİTASYON

Fertilizasyon ile ilgili ilk araştırmalarda, aşağı sınıf hayvanların sperm ve oositinin bir araya getirilmesiyle fertilizasyon gerçekleşirken, memelilerde sperm ve oosit bir araya getirildiğinde fertilizasyonun gerçekleşmediği gözlenmiştir⁽¹²⁾. Bütün memeli türlerinde spermatozoonlar dişi genital kanalına ilk bırakıldığında; metafaz 2'deki oositi dölleyecek yeterli motiliteye ve yeteneğe sahip değildirler. Bu durum memeli sperminin memeli oositini fertilize etmeden önce bazı özel değişiklikler geçirdiğini düşündürmüştü ve araştırmacıları kapasitasyon araştırmalarına yönlendirmiştir^{11,12}.

Spermin oositi fertilize edebilmesi için kapasitasyon adı verilen bir fertilizasyona hazırlık süreci gereklidir^{11,12,13,14}. Yarım yüz yıl önce Austin (1951-1952)-Chang (1951-1955) tarafından keşfedilen^{13,14} kapasitasyon olayı, spermin dişi genital sisteminde fertilizasyon yeteneği kazandığı moleküler ve fizyolojik olayların tümünü kapsar. Dişi genital kanalında lokalize olan glukozaminoglikanlar, kondroitin sülfatlar, heparin benzeri ve henüz tanımlanmamış bazı maddelerin kapasitasyon sırasında spermatozoonların plazma membranındaki değişikliklerden sorumlu olduğu bilinmektedir. Kapasitasyon, tipik ligand-reseptör etkileşim mekanizmasına dayalı; kalsiyum-bağımlı, cAMP-bağımlı, kinaz-bağımlı, G-protein bağımlı, redoks-bağımlı bir olaydır^{11,16}. Ardından hiperaktivasyon, akrozom reaksiyonu ve oosit-sperm füzyon olayları gerçekleşmektedir^{11,12}.

Fertil bir erkekte bir ejakülasyonla atılan yaklaşık 60-500 milyon sperm, uterus kas hareketi ve sperm motilitesi ile dakikada 3 mm kadar yol alarak, vagina üst kısmında depolanır ve bu spermelerden ancak 500 kadarı tuba uterina'ya ulaşır. Ejakülasyonla fornikse boşaltılan spermeler, 1-1,5 saat içinde

serviks ve uterus yolu ile ampullaya gelirler. Dişi üreme sisteminde ovum follikülden atıldıktan sonra canlılığını koruduğu 24-48 saat içinde spermle karşılaşır, tuba uterinanın ampulla kısmında fertilizasyon gerçekleşir. Taze semenin pH'sı 7-7,4 dolayında olup, tamponlama özelliği ile normal vagina asidik pH'ı olan 4-4,5'a karşı spermleri, vaginanın antibakteriyal asiditesinden korumaktadır^{5,16,17,18}.

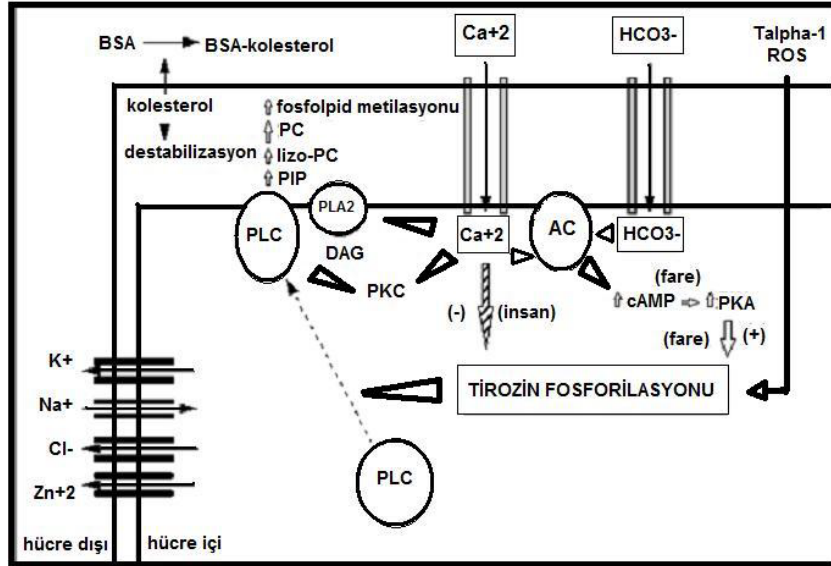
Ejakulasyonu hemen takiben dişi genital sistemine giren sperm motil olmasına rağmen, erkek genital sisteminde ve dişi aşağı genital sisteminde ilerlemesi sırasında, erken fertilizasyon olaylarının başlamasını önleyen dekapasitan faktörler nedeniyle fertilizasyon kapasitesine sahip değildir. Sperm etrafında 2000'den daha küçük molekül ağırlıklı karbonhidratlar olan dekapasitan faktörler; epididimis ve seminal veziküllerden salınarak, ejakulasyon sırasında semene katılırlar ve serviks, uterus ya da tubalar içerisinde spermden uzaklaştırılırlar^{19,20,21}.

Kapasitasyon sırasında, spermatozoonların kuyruğunda aksonemi saran "dış yoğun lifler" yapısının yoğun miktarda çinko (Zn^{+}) içeriği, kuyruğu prematür oksidasyondan koruyup, sağlam bir yapı kazandırır. Epididimal geçiş sırasında Zn 'nin % 60'dan fazlasının spermden atılmasıyla, disülfid köprülerinde artış ve sülfidril grubunda azalma gerçekleşir, böylelikle dış yoğun lifler yapısının sertleşmesi ve stabilizasyonu sağlanır. Ortamda Zn^{+} bağlanmasının sperm motilitesini belirgin şekilde artırdığı gösterilmiştir^{22,23}.

Ayrıca kapasitasyon için serum albumin, kalsiyum (Ca^{+2}), bikarbonat (HCO_3^{-}) ve enerji kaynakları da gereklidir. Spermatozoonlar enerji kaynaklarını glikolizden, daha az olarak da mitokondriyonlardaki oksidatif fosforilizasyondan sağlar. Kapasitasyon spermatozoon'un kolesterol bakımından zengin akrozomundan ve flagellum üzerini kaplayan membran yapısından, kolesterolün bağlanarak dışarı alınması ile başlatılır^{21,24,25,26,27,28,29,30}. Kolesterol, membran üzerindeki kaveolalar içerisinde, membrana bağlı inaktif durumdaki kaveolin adı verilen proteinlere bağlı halde bulunurlar^{26,28}. Dişi genital sistemi sekresyonlarında özellikle folliküler sıvıda yoğun bulunan albumin, sperm membranındaki kolesterolü

kendisine bağlayarak membrandan uzaklaştırır. Kolesterolün sperm membranından ayrılmasıyla, membran akışkanlığı artar, sinyal oluşumu gerçekleşir. Sonuçta, inaktif halde bulunan protein kinazlar, G-proteinleri ve fosfofruktokinaz gibi aracı moleküller aktifleşerek kalsiyumun hücre içine girmesini sağlayıp, kapasitasyonu başlatırlar^{21,24,25,26,27,28,29,30,31}. Albumin dışında kolesterolü bağlayan diğer bileşikler: High-density lipoprotein (HDL) ve β -cyclodextrin'dir^{26,27}. Kolesterolün membrandan ayrılması; membran kompozisyonunu değiştirir, kalsiyum ve bikarbonat geçirgenliğini artırır, adenil siklazı stimüle ederek adenosin 3'-5' siklik monofosfat (cAMP) metabolizmasını regüle eder^{21,33,34,35}. Kapasitasyon sırasında hücre içi pH artışından sorumlu olan HCO_3^- konsantrasyonu epididimiste düşük iken seminal plasma ve tuba uterinalarda yüksektir^{21,29,30,31}. Membran hiperpolarizasyonu ile kalsiyum kanalları, voltaja duyarlı Na^+/H^+ değiştirici kanallar ve K^+ kanalları aktive olmaktadır. H^+ kanallarının aktifleşmesi ve bikarbonat geçirgenliğinin artışı ile gerçekleşen, intraselüler alkalinizasyon sonrası dynein kollarında aktivasyon gerçekleşir. İntrasellüler H^+ , Na^+ ve K^+ varlığı kapasitasyonla birlikte motiliteyi de indüklemektedir. Hiperpolarizasyona bağlı intraselüler Ca^{+2} artışıyla adenil siklaz, fosfataz, fosfodiesteraz gibi hücre içi enzim aktivasyonları gerçekleşmiştir. Aktive olan adenil siklaz, ATP'dan fosfat aktararak cAMP üretimini stimüle eder^{21,31,32,33,34}. Adenil siklaz aktivitesi ve cAMP sentezi ile stimüle olan protein kinaz-A; hücre içi proteinlerin aminoasit terminallerine, ATP'dan fosfat aktararak tirozin fosforilasyonunu gerçekleştiren tirozin kinazın aktivasyonunu sağlar^{21,31,32,33,34}. Serin, treonin ve tirozin aminoasitleri, fosforilasyondan sonra oosit membran proteini olan ZP3 için reseptör görevi gören başlıca aminoasitlerdir. Memelilerde tirozin fosforilasyonu modülatörü kalsiyum iken, insanda tirozin fosforilasyonu modülatörü olarak; seminal plasma ve tubal sıvıda bulunan Talpa-1 ve spermatozoonlarda toksik etkiye sahip serbest radikal (ROS) ürünlerinden hidrojen peroksit (H_2O_2), nitritoksit (NO) sayılabilir³⁴ (Şekil 1). ROS yüksek dozda lipid peroksidasyonuna neden olup, kapasitasyon ve motiliteyi olumsuz yönde etkileyen reaktif oksijen türüdür^{34,35}. Kapasitasyon

sırasında sperm hücresinde fosfolipid metilasyonundaki artışla birlikte, fosfotidiletolaminden fosfotidilkolin sentezi de gerçekleşmektedir^{34,36}. Kalsiyuma bağlı olan ve tirozin fosforilasyonu sonucu oluşan fosfotirozin ile aktive olan fosfolipaz-C, fosfoinozitol bifosfatı (PIP₂); inozitol trifosfat (IP₃) ve diaçilgliserol (DAG) olarak iki parçaya ayırır³⁷. İnozitol trifosfat (IP₃), endoplazmik retikulum veya akrozom reseptörlerine bağlanarak Ca⁺² açığa çıkarır ve açığa çıkan Ca⁺² kalmoduline bağlanarak taşınır. Diaçilgliserol (DAG) ile stimüle olan protein kinaz C (PKC), aktivasyonu için inozitol trifosfatın (IP₃) açığa çıkardığı Ca⁺²'a da ihtiyaç duyulmaktadır^{34,35}. Kapasitasyon sırasında her ne kadar hücre dışında kalsiyum bulunması gerekli olsa da, hücre içi kalsiyum deposu olarak akrozom da kullanılmaktadır³⁵ (Şekil 1).



Şekil 1. Kapasitasyonun moleküler mekanizması⁽³⁵⁾.

5. İN VİTRO KAPASİTASYON

Tubal sıvıya benzeyen elektrolit kompozisyonuna sahip besi yerine, ejakülat sperminin inkübasyonu ile in vitro kapasitasyon gerçekleştirilir. Yedi saat süren kapasitasyon olayı için enerji kaynağı olarak ekzojen enerji kaynakları (piruvat, laktat, glukoz) kullanılmaktadır. Kapasitasyonun geçici bir olay olması ve kapasite olmuş bir sperm tekrar kapasite olamaması in vitro çalışmaları zorlaştırmaktadır⁴³.

Biyolojik stimulan olarak; albumin, glikozaminoglikanlar ve progesteron içeren sperm motilitesi ve akrozom reaksiyonunu uyarıcı etkisi olan, insan follikül sıvısı kullanılmaktadır. Prostattan gelen, kullanımı doz bağımlı ve peroksidasyona karşı koruyucu etkisi de bulunan protazom denilen faktörlerin seminal plazmada, sperm motilitesini ve sperm sayısını uyarıcı etkisi bulunmaktadır. Spermin motilitesini ve fertilizasyon kabiliyetini düzeltmek amacıyla bir çok farmakolojik ilaç in vitro olarak denenmiştir. Bunlardan kafein, pentoksifilin gibi fosfodiesteraz inhibitörleri laboratuvarında semene eklendiklerinde, hücre içi cAMP düzeyini, glikolizisi ve ATP yapımını artırarak motil sperm oranını yükseltmekte ve aynı zamanda canlı ama immotil spermatozoonlarda da motiliteyi başlatmaktadırlar. Ancak kafeinin in vitro kullanımı, akrozom reaksiyonu ve sperm membranı üzerine zararlı etkilerinden dolayı büyük oranda terkedilmiştir. İn vitro kullanıldığında, hücre düzeyinde fosfodiesteraz inhibisyonunu yapan pentoksifilin, lipid peroksidasyonunu artırarak, spermin membran akışkanlığını etkilemektedir. Yüksek doz ROS, sperm motilitesini ve canlılığını olumsuz yönde etkilerken, diğer yandan kapasitasyon, hiperaktivasyon ve akrozom reaksiyonunun uyarılmasında önemli role sahiptir. Sitotoksik bir serbest radikal olan NO, süperoksit'i inaktive ederek hücre içi cGMP'ı artırır^{43,44}.

6. AKROZOM REAKSİYONU

Akrozom, spermatogenez sırasında, Golgi kompleksinden köken alan, bir yapı olup spermin oosit ile teması sonucu akrozom reaksiyonunu başlatmaktadır^{1,2,3,4,5}. Sperm ile ovumun yüzeyel tutunması, ovumdaki fertilizin

ve spermdeki antifertilizin reseptörlerinin etkileşimi türe özeldir. Sperm zona reseptörlerinin, oosit membran proteini olan zona pellusida ile teması sonucu Ca^{+2} kanalları açılırken, oosit kumulus hücrelerinden salınan progesteronun, sperm membranındaki GABA reseptörleriyle temasın sırasında Cl^- kanalları açılmaktadır. Ayrıca sperm membranından H^+ ayrılmasıyla pH artışı gerçekleşirken³⁵, fosfolipaz A2 (PLA₂) artışı ile araşidonik asit, lyso-fosfatidilkolin ve platelet-aktive edici faktör artışı gerçekleşmektedir^{39,40,41}.

Sperm iç ve dış akrozomal membranı arasında, akrozomal enzimler olarak bilinen hyalüronidaz, akrozin, nöraminidaz ve tripsin benzeri maddeler bulunur. Oosit plazma membranı ile sperm dış akrozomal membranının birleşmesiyle, ekzositoz sonucu hidrolitik veziküller dış ortama salınır. Serbest bırakılan ilk enzim, hyalüronidazdır. Hyalüronidaz spermin, korona radiata tabakasını geçmesini sağlarken, akrozin ve tripsin benzeri maddeler zona pellusidayı eriterek, spermin vitellusa ulaşmasına olanak verir. Bu enzimlerden başka, döllenmede rolü olan, fakat fonksiyonları ve ince yapıları tam olarak bilinmeyen aril sülfataz A ve B gibi enzimler de akrozomal enzimler arasındadır.

Spermin kapasitasyonu sonucu oluşan hiperaktivasyon ile oosit membranında meydana gelen penetrasyon yarığında sperm girişi gerçekleşir. Bu sırada oosit iç zarında bulunan vitellus kortikal granüllerinin, perivitellin boşluğa salınmasıyla, polispermiyi önleyen "döllenme membranı" oluşur^{1,2,3,4,5,34,38}. Spermin oosit içerisine girişinin ardından metafaz 2'de bekleyen oosit, 2. mayozu tamamlar. 2. polar cismin atılmasıyla, sperm pronukleusu ile oosit pronukleusu birleşir ve zigot oluşur^{1,2,3,4,5}.

Kaynaklar

1. Sadler TW, Langman Jan. Medical Embriyology. Lippincott Williams-Wilkins, 2010, 27-31.
2. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology: Pennsylvania, W.B. Saunders Company, 1997, pp 406-412.
3. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology: a Text and Atlas, 4th ed: Lippincott Williams-Wilkins. Philedelphia, 2003 , pp 689-696.

4. Carlos Junqueira L, Carneiro Jose, Kelley Robert O. Temel Histoloji: a Lange medical book, 1995, sf407-413
5. <http://www.utm.utoronto.ca>
6. Gulaya NM, Margitich VM. Phospholipid composition of human sperm and seminal plasma in relation to sperm fertility. Arch Androl. 2001 May-Jun;46(3):169-75.
7. Poulos A, White IG. The phospholipid composition of human spermatozoa and seminal plasma. J Reprod Fertil. 1973 Nov;35(2):265-72.
8. Niu DM, Wang JJ. Lipids in the sperm plasma membrane and their role in fertilization, Zhonghua Nan Ke Xue. 2009 Jul;15(7):651-5. Review. Chinese.
9. Trubner M, Glander HJ, Schaller J. Localization of adhesion molecules on human spermatozoa by fluorescence microscopy. Andrologia. 1997 Sep-Oct;29(5):253-60.
10. Katz AM, Rosenthal D, Sauder DN. Cell adhesion molecules. Structure, function, and implication in a variety of cutaneous and other pathologic conditions. Int J Dermatol. 1991 Mar;30(3):153-60.
11. Salicioni AM, Platt MD, Wertheimer EV, et. al. Signalling pathways involved in sperm capacitation. Soc Reprod Fertil Suppl. 2007;65:245-59. Review.
12. Visconti PE, Bailey JL, Moore GD, et al. Capacitation of mouse spermatozoa: Correlation between the capacitation state and protein tyrosine phosphorylation. Development. 1995a;121: 1129-1150.
13. Austin CR. The "capacitation" of the mammalian sperm. Nature. 1952;170:326.
14. Chang MC. Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes. Nature.1951;168:697-698.
15. Gordon, I, Lu KH. Production of embryos in vitro and its impact on livestock production. Theriogenology, 1990; 33, 77-87.
16. Keith LM, Persaud TVN. Nobel kitapevi. İnsan embriyolojisine giriş, 2008.
17. Sadler TW, Langman Jan. Medical Embryology. Lippincott Williams-Wilkins, 2010, 36-39.
18. Moghissi GS: The function of the cervix in human reproduction, Year Book Medical Publishers, Chicago, 1984.
19. Mc Rorie, Williams WL. Biochemistry of mammalian fertilization. Ann. Rev. Biochem. 43 : 777, 1974.
20. Rachel Gibbons, Susan A, Adeoya-Osiguwa Lynn, Fraser R. A mouse sperm decapacitation factor receptor is phosphatidylethanolamine-binding protein 1.Reproduction (2005) 130 497-508.
21. Brewis IA, Moore HD, Fraser LR, et al. Molecular mechanisms during sperm capacitation. Hum Fertil (Camb). 2005 Dec;8(4):253-61.
22. Wroblewski N, Schill WB, Henkel R. Metal chelators change the human sperm motility pattern. Fertil Steril 79, 1584-8, 2003.

23. Andrews JC, Nolan JP, Hammerstedt RH, et al. Role of zinc during hamster sperm capacitation. *Biol Reprod* 51, 1238-1247 (1994).
24. Alexander J, Travis and Gregory S. Kopf. The role of cholesterol efflux in regulating the fertilization potential of mammalian spermatozoa. *Clin Invest*. 2002 September 15; 110(6): 731–736.
25. Visconti PE, et al. Capacitation of mouse spermatozoa. I. Correlation between the capacitation state and protein tyrosine phosphorylation. *Development*. 1995;121:1129–1137.
26. Visconti PE, et al. Cholesterol efflux-mediated signal transduction in mammalian sperm. β -Cyclodextrins initiate transmembrane signaling leading to an increase in protein tyrosine phosphorylation and capacitation. *J Biol Chem*. 1999;274:3235–3242.
27. Visconti PE, et al. Cholesterol efflux-mediated signal transduction in mammalian sperm: cholesterol release signals an increase in protein tyrosine phosphorylation during mouse sperm capacitation. *Dev Biol*. 1999;214:429–443
28. Cross NL. Role of cholesterol in sperm capacitation. *Biol Reprod*. 1998;59:7–11.
29. Lin Y, Kan FW. Regionalization and redistribution of membrane phospholipids and cholesterol in mouse spermatozoa during in vitro capacitation. *Biol Reprod*. 1996;55:1133–1146.
30. B. K. Davis, R. Byrne, B. Hungund. Studies on the mechanism of capacitation. II. Evidence for lipid transfer between plasma membrane of rat sperm and serum albumin during capacitation in vitro. *Biochem Biophys Acta* 558, 1979;257-266.
31. Zhang SX, Liu XY, Wang HY. Regulation of ion and ion channels in sperm capacitation. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2009 Feb;15(2):170-3.
32. Gadella BM, Harrison RA. The capacitating agent bicarbonate induces protein kinase A-dependent changes in phospholipid transbilayer behavior in the sperm plasma membrane. *Development*. 2000;127:2407–2420.
33. Flesch FM, et al. Bicarbonate stimulated phospholipid scrambling induces cholesterol redistribution and enables cholesterol depletion in the sperm plasma membrane. *J Cell Sci*. 2001;114:3543–3555.
34. N. J. Monks, D. M. Stein & L. R. Fraiser: Adenylate cyclase activity of mouse sperm during capacitation in vitro: effect of calcium and a GTP analogue. *Int J Androl* 9, 1986;67-76.
35. Gerbers DL, Tubb DJ, Hyne RV. Requirement of bicarbonate for Ca²⁺-induced elevations of cyclic AMP in guinea pig spermatozoa. *J Biol Chem* 257, 1982;8980-8984
36. Baldi E, Luconi M, Bonaccorsi L, et al. Human sperm activation during capacitation and acrosome reaction: role of calcium, protein phosphorylation and lipid remodelling pathways. *Front Biosci*. 1996 Aug 15;1:d189-205.
37. Urata K, Narahara H, Tanaka Y, et al. Effect of endotoxin-induced reactive oxygen species on sperm motility. *Fertil Steril* 76, 2001;163-6.
38. Llanos MN, Meizel S. Phospholipid methylation increases during capacitation of golden hamster sperm in vitro. *Biol Reprod* 28, 1983;1043-1051.

39. Florman M, Tombes RM, First NL. An adhesion-associated agonist from the zona pellucida activates G protein-promoted elevations of internal Ca and pH that mediate mammalian sperm acrosomal exocytosis. *Dev Biol* 135, 1989;133-146.
40. Rorie Mc, Williams WL. Biochemistry of mammalian fertilization. *Ann. Rev. Biochem.* 43, 1974; 777.
41. Fry MR, Ghosh SS, East JM. Role of human sperm phospholipase A2 in fertilization: effects of a novel inhibitor of phospholipase A2 activity on membrane perturbations and oocyte penetration. *Biol Reprod* 47, 1992;751-759.
42. Roldan ERS, Fragio C. Phospholipase A2 activation and subsequent exocytosis in the Ca²⁺/ionophore-induced acrosome reaction of ram spermatozoa. *J Biol Chem* 268, 1993;13962-13970.
43. Roldan ERS, Fragio C. Diacylglycerols stimulate phospholipase A2 and subsequent exocytosis in ram spermatozoa. *Biochem J* 297, 1994;225-232.
44. Travert C, Carreau S, Galeraud-Denis I. In vitro capacitation. *Gynecol Obstet Fertil.* 2009 Jun;37(6):523-8. Epub 2009 May 27. French.
45. Trounson A, Gardner DK. CRC Press. Hand book of in vitro fertilization, Institute of reproduction and development, Monash University, Victoria, Australia 1993.

Yazışma Adresi:

Yük. Lis. Öğr. Gülfidan ZÜLFİKAROĞLU
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
01330 Balcalı/Adana

E posta: gul00_7@hotmail.com