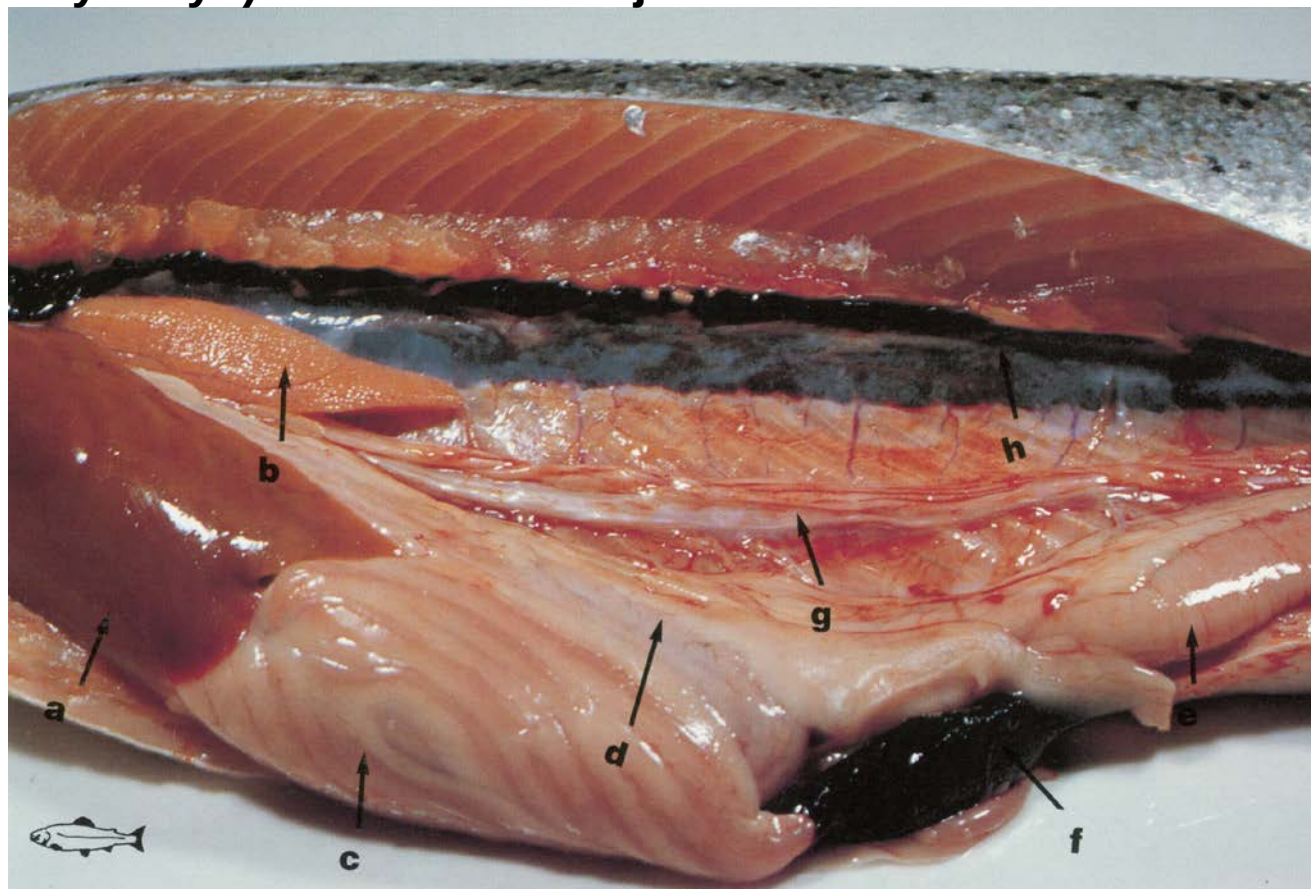


Ovogeneze, ovulace a ENDOKRINNÍ REGULACE

Příklad uložení ovarii (párový orgán) u juvenilního lososa (období u lososovitých ryb) nezakládá se vejcovod.



a – játra, b – ovaria, c –pylorické přívěsky žaludku, d – žaludek, e- střevo, f – slezina, h – ledviny, g - střevo

U kapra, štiky, okouna, candáta a lína je ovarium protáhlý párový orgán v dorzální části, zakončený vejcovodem s vývodem v močopohlavní papile za řitním otvorem.

Otomar Linhart, Řízená
reprodukce ryb, 2018

Stupně vývoje ovarii, tzv. stupně pohlavní zralosti

1. **Stadium mladosti** – ovaria jako úzké lišty přiléhající k stěně těla, pohlaví nelze makroskopicky rozlišit.
2. **Stádium klidu** – u ryb po výtěru (u typu se synchronním zráním zárodečných buněk) případně dospívající. Ovaria velmi malé s drobnými jikrami, makroskopicky špatně rozpoznatelné.
3. **Stádium dozrávání** ovarii, vyplňují až 1/3 ovarii, zvětšují se (GSI 3-5%). Na vnitřní straně vaječníků výrazná krevní céva. Je to nejdelší období ve vývoji.
4. **Stádium zralosti** – gonády jsou plně vyvinuté. Vyplňují 2/3 tělní dutiny. GSI 5-20 % podle druhu. Krátké období ve vývoji gonád.
5. **Stádium výtěrové** – probíhá ovulace jiker, které opouští tělo při malém tlaku na stěnu tělní dutiny. U lososovitých ryb prasknou vaječníky a jikry se dostávají do tělní dutiny a následně močopohlavním otvorem z těla ven. U kaprovitých ryb dojde k vyprázdnění vaječníku přes vejcovod.
6. **Stádium po výtěrové** – stádium resorbce u ryb se synchronní ovulací - gonády jsou vyprázdněné. Gonády se vrací do stádia 2 u druhů studenomilných (pstruh). U teplomilných (kapra – semi synchronní) se vrací do stádia 3, kdy v průběhu teplot nad 18 °C gonády kontinuálně cyklicky dozrávají k dalšímu výtěru. U ryb s asynchronním dozráváním dochází k vstřebávání jen v určitých partiích gonád (lín) a gonáda se vrací do stádia 3.

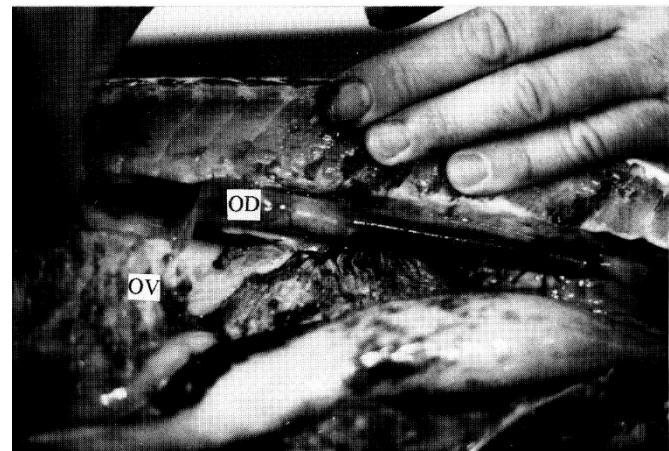
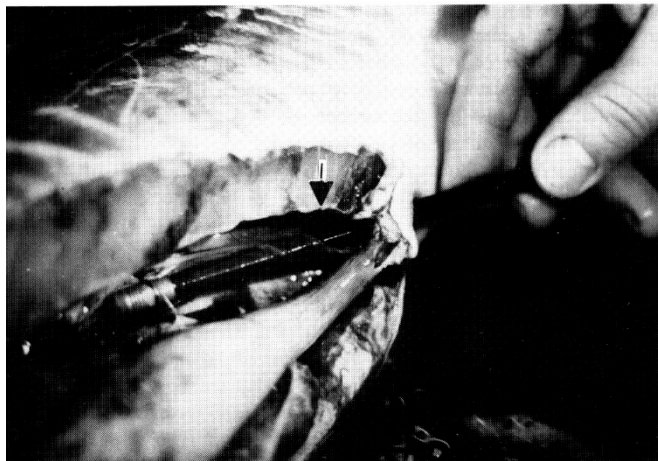
Ovarium a vejcovod

Ovarium je párový válcovitý orgán v dorsální a spíš orálnější části břišní dutiny, zakončený v kaudální části vejcovodem s vývodem do tzv. pohlavní papily mezi řitním otvorem a močovou trubici. Vejcovody odvádějí vajíčka z gonády. Sekreci obstarávají sekreční buňky ovaria. Většinou močový a pohlavní vývod je sveden, do tzv. močo-pohlavní papily.

U lososovitých a jeseterovitých ryb existuje vejcovod v různé délce. U lososovitých ryb spojuje pouze ve spodní části břišní dutinu s pohlavní papilou. U jeseterovitých ryb se nálevka vejcovodu nachází až v dorsální části břišní dutiny. Jikry u těchto druhů jsou při ovulaci vypuzeny z ovaria v místě porušené stěny ovaria do tělní dutiny a následně vypuzeny vejcovodem z těla ven.

Ukázka u veslonosa s komplikací ovulace jiker do tělní dutiny, následné jímání jiker do nálevky vejcovodu v dorzální části a vypuzení z těla ven. Pro účely řízené ovulace se provádí naříznutí vejcovodu v místě vývodu do pohlavní papily.

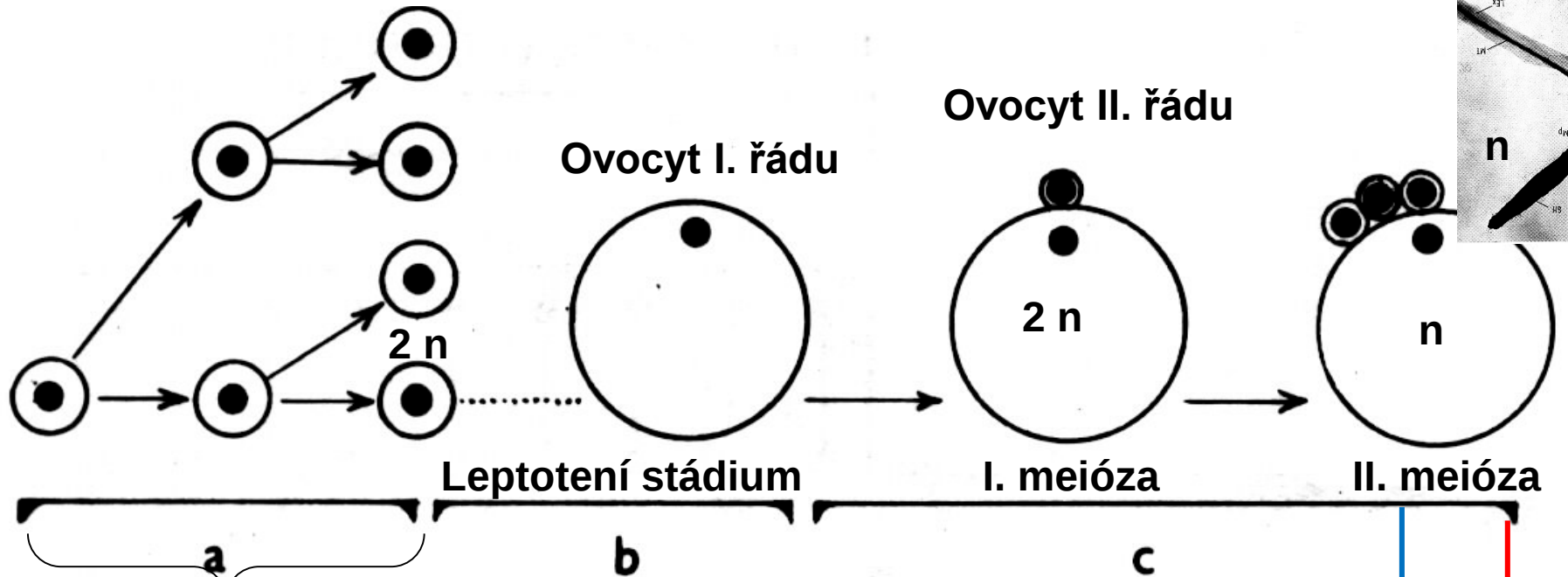
Způsob výtěru jiker u veslonosa



Základní rozdělení ovogeneze

1. Formování PGC – odpřednášeno, přednáška 4.
2. Transformace PGC tedy sexuální diferenciaci na ovogonie – odpřednášeno, přednáška 4.
3. Transformace ovogonií sekundárních na ovocyty – začátek meiózy (pachytení profáze) - spojený s tvorbou primárních folikulů a začátkem folikulogeneze, primární folikul je tvořen jednovrstvným epitelem – obepínající vznikající ovocyt.
4. Růst ovocytů v průběhu zadržetí meiózy.
5. Zrání ovocytů se znovu obnovením meiózy.
6. Vypuzení vajíčka z folikulu – ovulace.
7. Vstřebání nevytřených dozrálých ovocytů.

Ovogeneze – a – fáze dělení (ovogonie), b – fáze růstu a přeměny z ovogonie na ovocyt I. řádu, c – fáze zrání přeměna na ovocyt II. řádu v meióze I a II.



mitóza

Primárních a sekundární ovogonie – sekundární ovogonie se přemění na ovocyt I. řádu

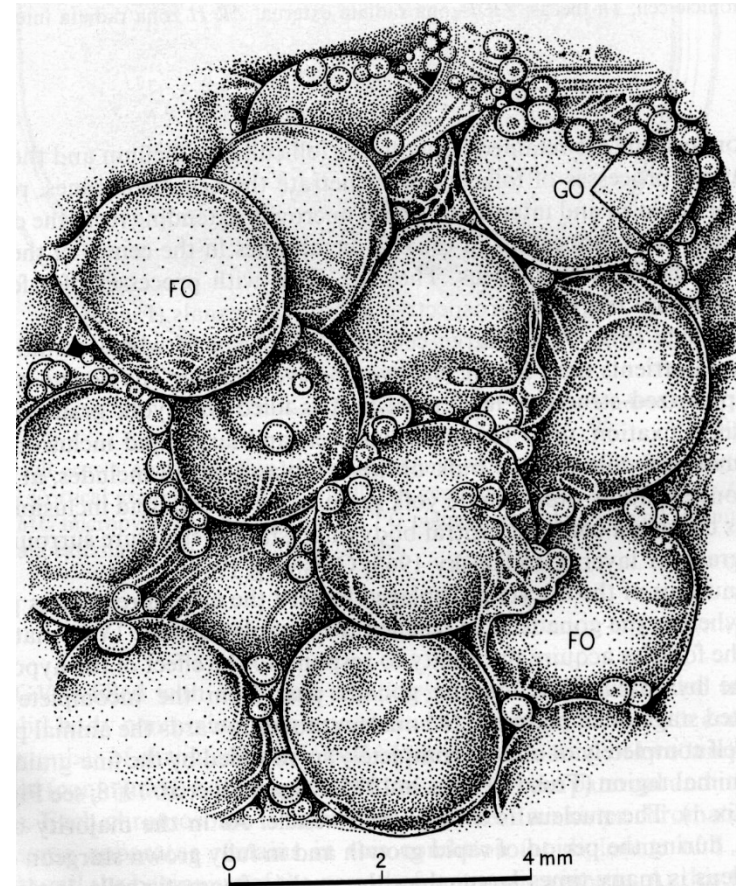
meioza

Ovulace = vajíčko, metafáze II. meiózy

Konec meiozy až po vniknutí spermie do vajíčka

Struktura ovária

- **Folikulární typ** – (většina kostnatých ryb, kapr, pstruh duhový, štika atd.).
- **Ovogie primární** – mitoticky se dělí/množí a jsou obaleny primárním folikulem.
- **Sekundární ovogie** vytváří rostoucí folikul (více vrstevný epitel) s dutinou v které se ovogie mění na ovocyt I.řádu
- **Ovocyt I. řádu** roste ve folikulu obklopen coronou radiata.
- **Zralý folikul s ovocytem II. řádu** – tzv. **Gráfův folikul**

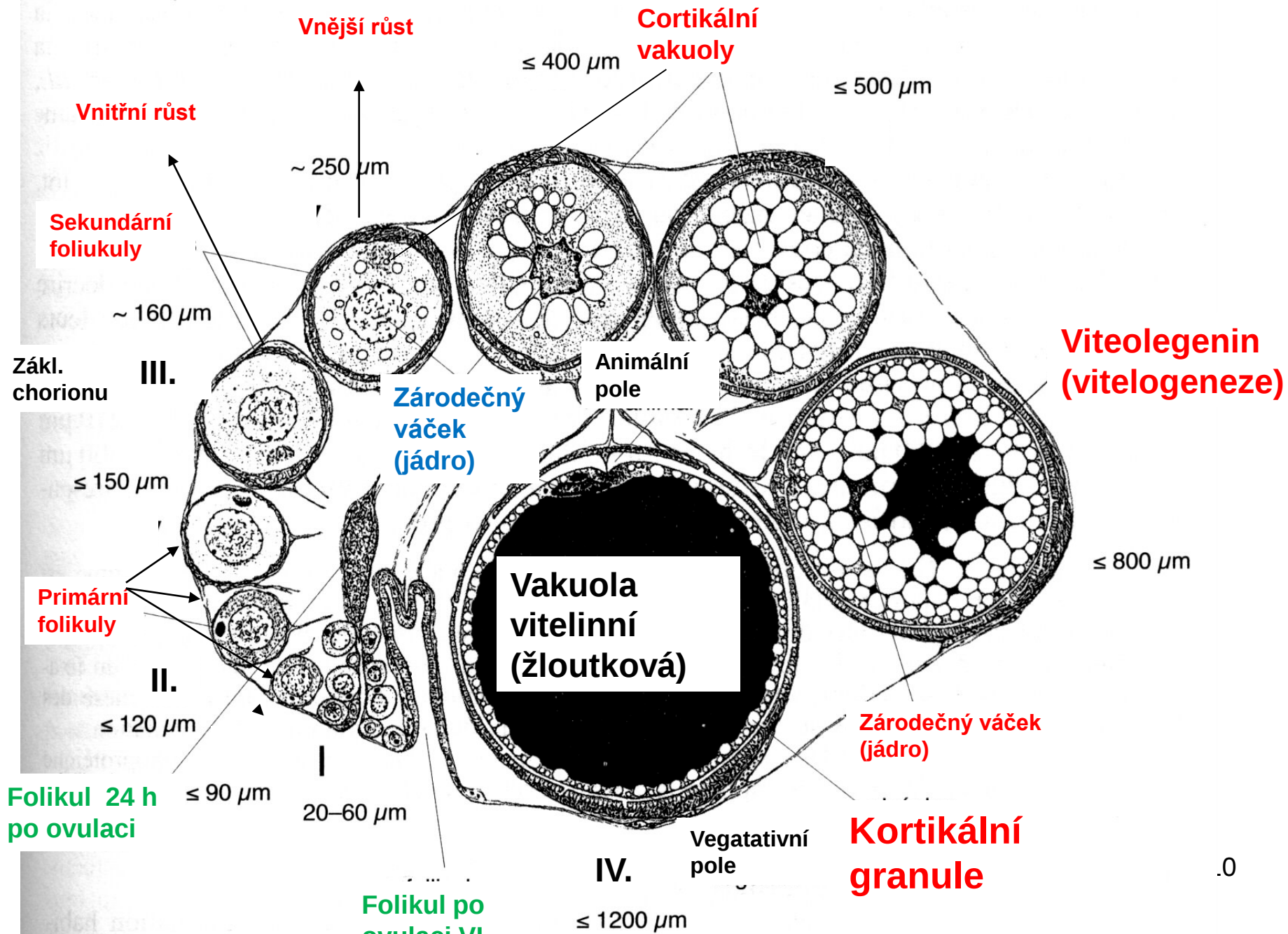


4. Růst ovocytů v průběhu zadržení meiozy

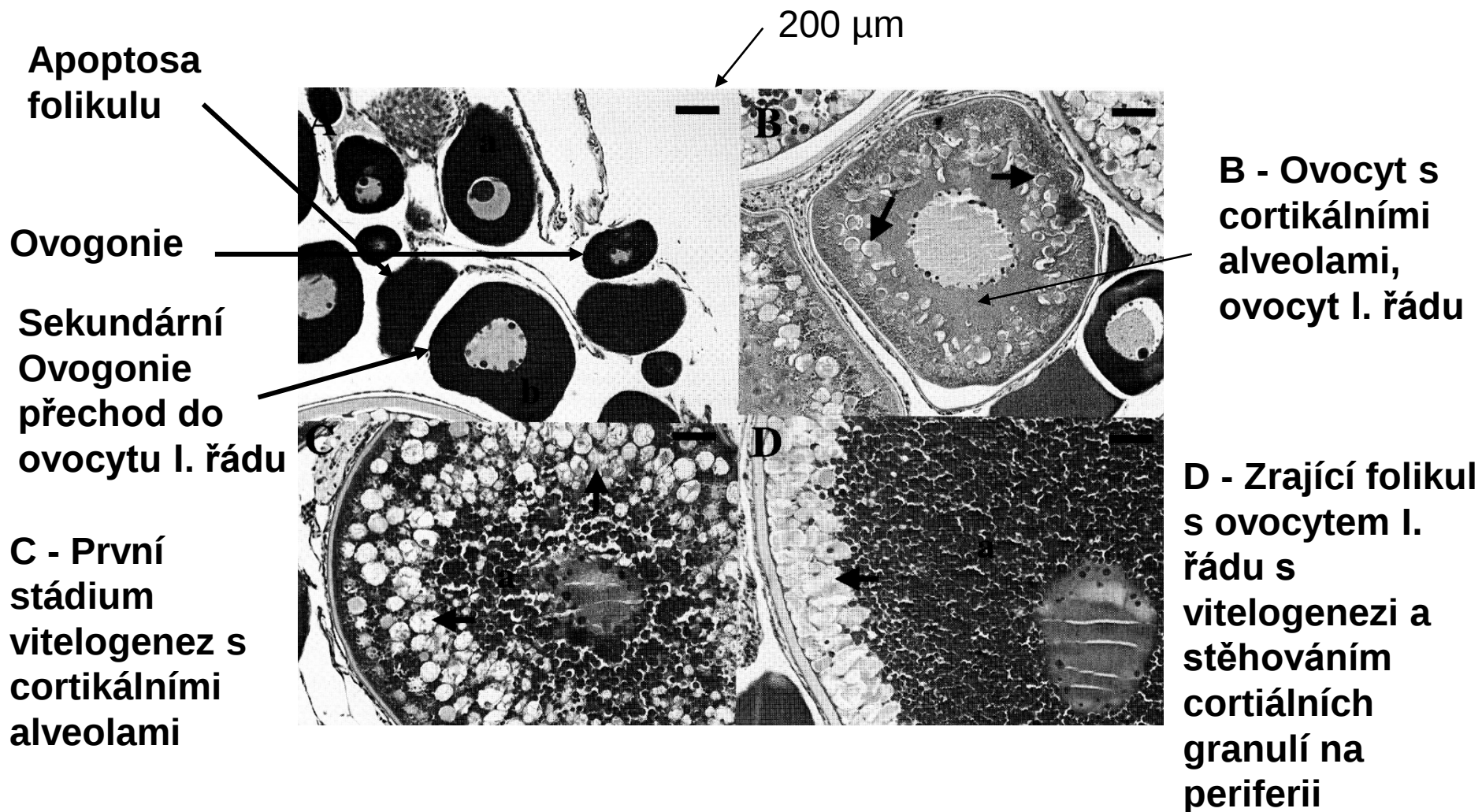
A) Předvitelogenní růst – tedy vnitřní růst

- Dochází k produkci ribozomální RNA a mRNA, které se prezentují jako receptory vitelinního růstu.
- Glycoproteiny se syntetizují a později formují v období vnějšího růstu do kortikálních granulí.
- Ovocytární lipidy se začínají vyvíjet v ovocyту.
- Vlastní folikul a jeho vnitřní struktura se vyvíjí do formy mikrovýrůstků korespondující s výrůstkou v oblasti zóny radiata (vitelinní obálka ovocyту a budoucího vajíčka). Vlastní prorůstání mikrovýrůstků (klků) obálky ovocyту do obalu folikulu je umožněno tvorbou tzv. vitelinního proteinu, kontrolovaného estrogeny. V místech výrůstků se vytvářejí tzv. vnější kanálky pro transport především vitelogeninu.

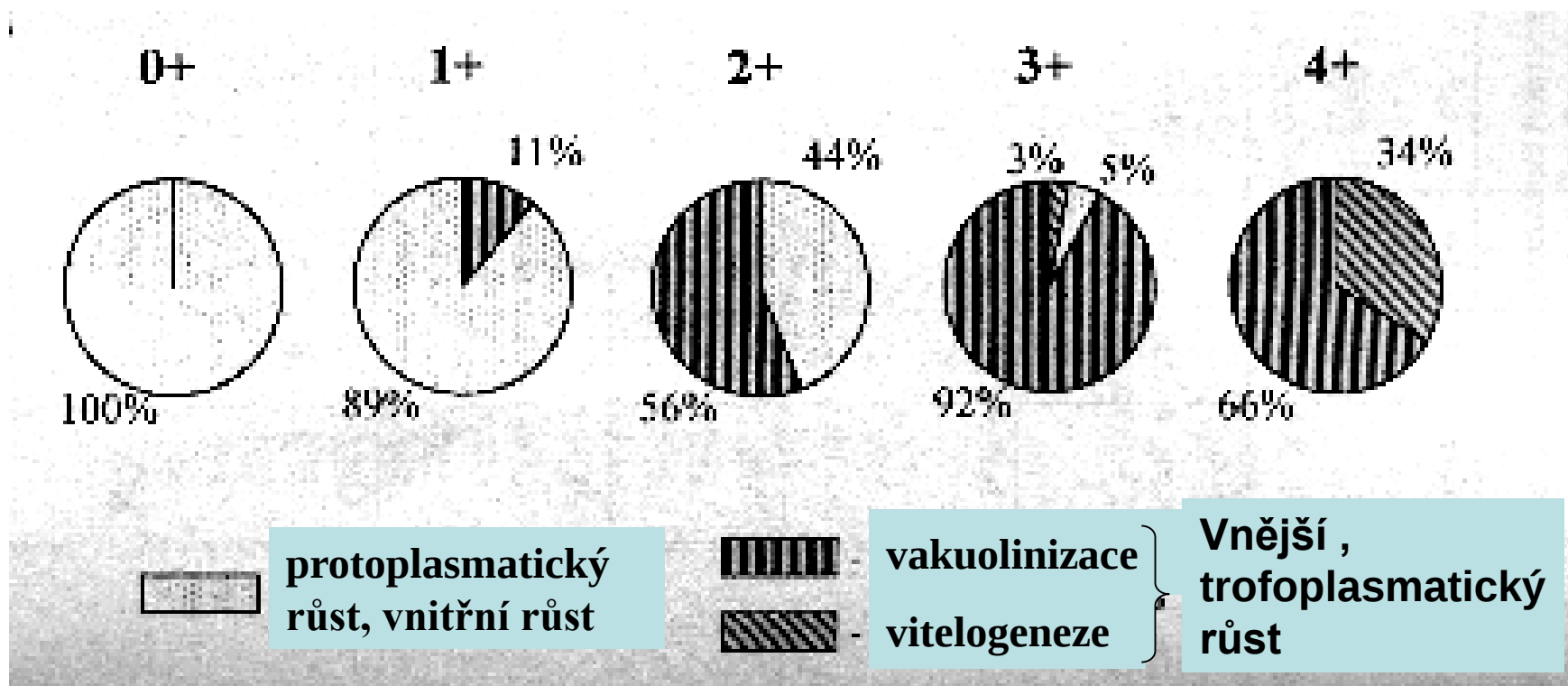
Příklad ovogeneze u halančíka ryžovištního



Ukázka stádií ovogeneze u kapra



Podíl oocytů prvního řádu u lina obecného ve stáří 0+ - 4+

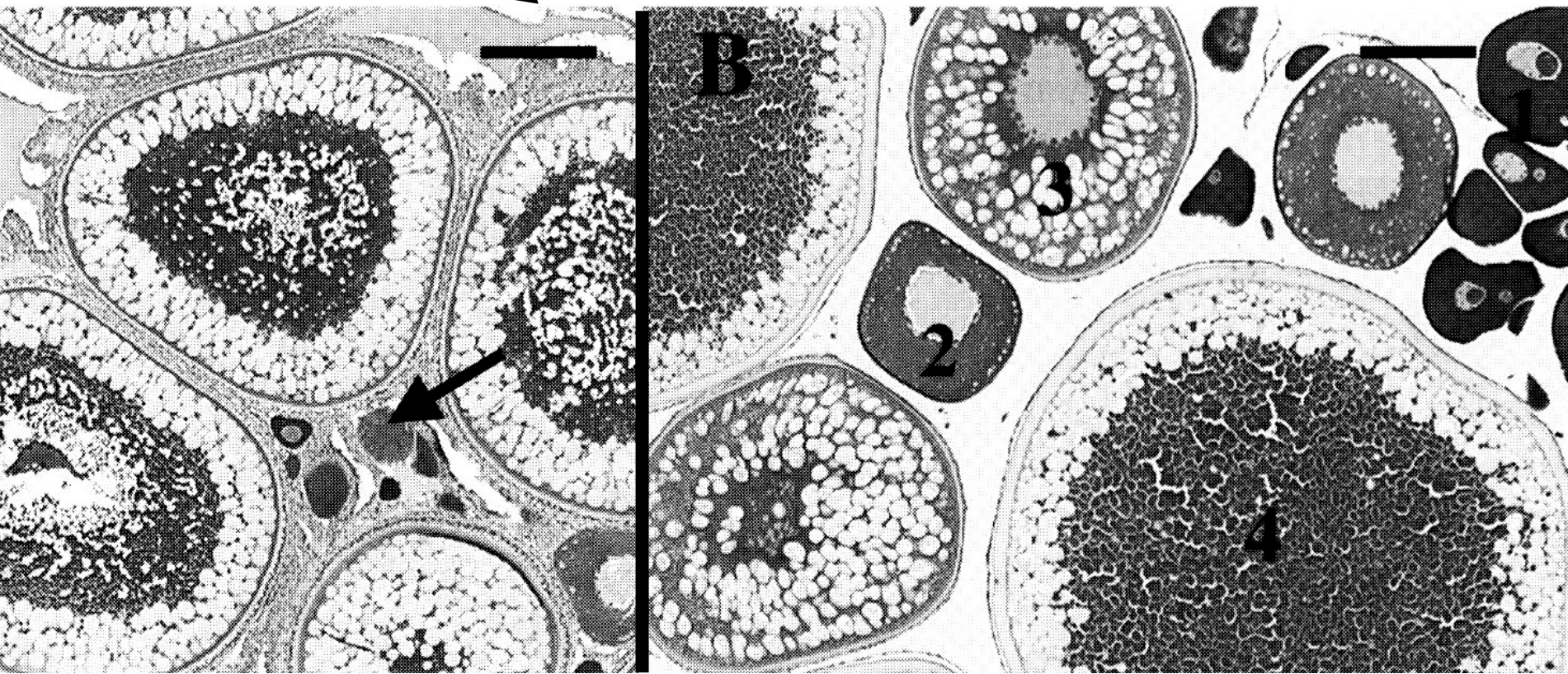


Systém růstu a zrání:

- **synchronní** - pstruh duhový, okoun
- **kombinace obou systémů** – kapr podle teplotní oblasti
- **asynchronní** - lín obecný, karas

Asynchronní ovárium kapra

Synchronní ovárium okouna



B) Vitelogenin a jeho regulace

- **Vitelogenin** je glyko-fosfolipo-protein syntetizovaný v játrech s transportem přes cévní systém do folikulů.
- **Produkce vitelogeninu** je spojena u studenomilných druhů lososovitých s produkcí FSH – produkcí 17 beta estradiolu (tzv. E2). U teplomilných druhů (kapr, karas) a převážné většiny ryb je vitelogeneze způsobena produkcí LH.

C) Vitelogenin rŭst a jeho regulace

- Vitelogenin se dostává pŕes jednotlivé vnější a vnitřní vrstvy folikulu a vnější vrstvy ovocytu formou kanálků (klků), naváže se na specifický receptor s dekodovaným genem v oblasti vnitřní struktury ovocytu a spojí se s lysozomem.
- Následuje v lysozomu vznik ŕloutkového proteinu.
- Vitelogenin a z něj ŕloutkový protein pŕedstavuje u sladkovodních ryb 80 % sušiny vajíčka.

D) Formování žloutkového proteinu

- Z vitelogeninu se vytváří dva hlavní žloutkové proteiny - **lipovitelin (Lv) a phosvitin (Pv)**.
- **Lv – nukleové kyseliny a lipidy** – důležité pro embryogenezi.
- **Pv – serin ve vazbě s Ca**, důležitý pro transport iontů pro tvorbu skeletu a metabolických funkcí.
- Růst je kontrolován produkcí 17 beta estradiolu v granulózních buňkách za účasti aromatázy.

E) Umístění lipidů a jeho regulace

- Většinou u kostnatých ryb vitelogenin obsahuje zhruba 20 % lipidů z čehož je 60-80 % fosfolipidů tzv. polární lipidy. Fosfolipidy - tvorba membrán. U pelagických jiker obsah olejových kapek, důležité pro výživu embryí a rovněž funkci jikry.

F) Formování vitelinní membrány (obálky, zona radiata)

- Obecně v době růstu tvoří folikul - théka, folikulární epitel, rosolovitá vrstva budoucího ovocytu a vajíčka, zóna radiáta ovocytu (chorion) a kortikální vrstva v ovocytu.
- Zpočátku je vitelinní membrána budovaná jako vnější a vnitřní vrstva s další strukturací, regulovaná komplexem hormonu E2.

5. zrání ovocytu

LH – je u ryb odpovědný za zrání. V době dokončení folikulu s ovocytem se LH naváže na receptor v théce, který spustí tvorbu tzv. indukčně-dozrávacího hormonu (MIH) v závislosti na meioze. Indukčně dozrávací hormon je progesteron.

LH je odpovědný za znovu nastartování meiózy.

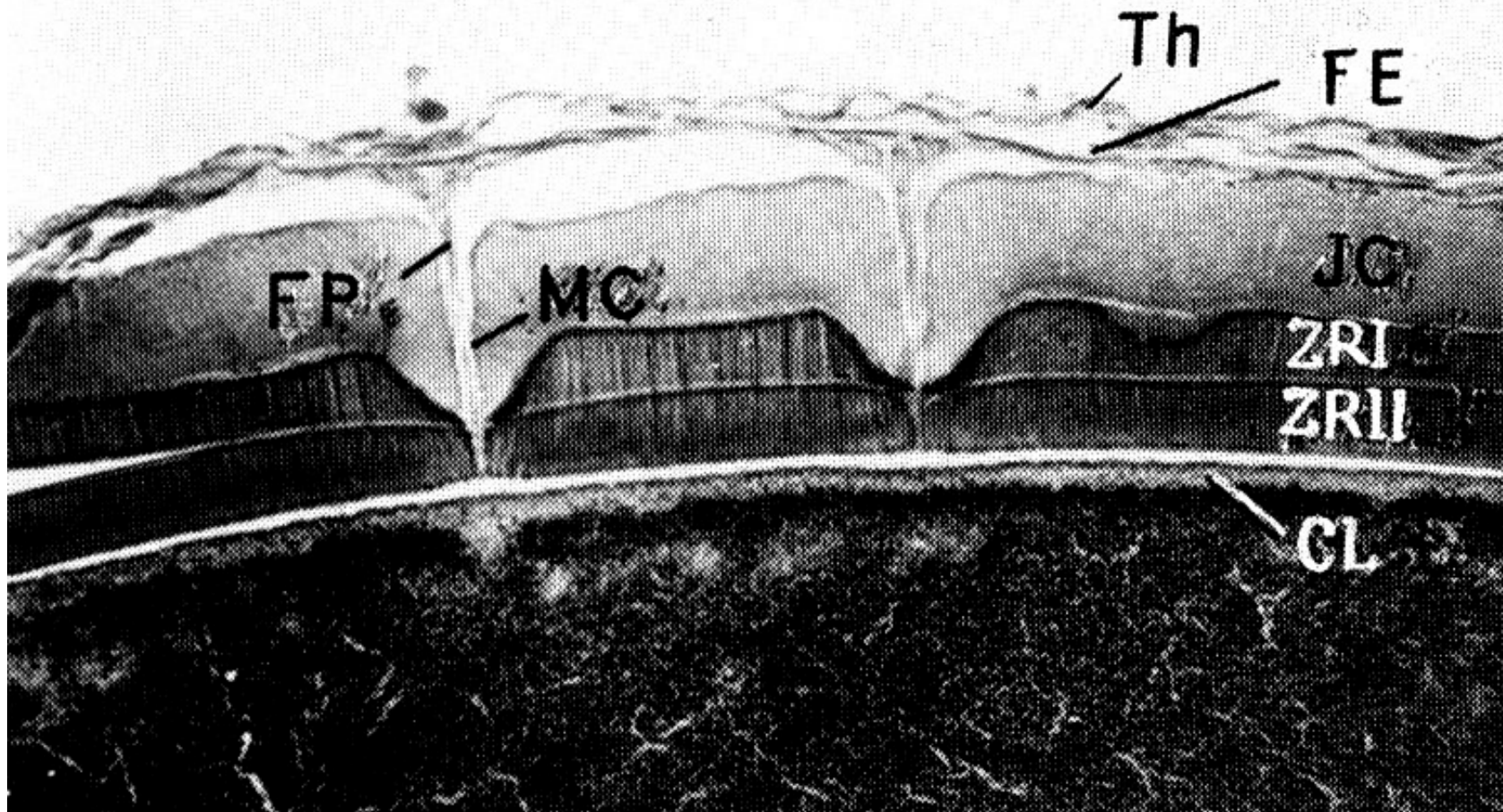
Cytoplasmatické dozrání

Dochází především k hydrataci, dokončení proteolýzy a přípravě ovocytu k výtěru do jiného osmotického prostředí, na kterém se podílí některé aminokyseliny.

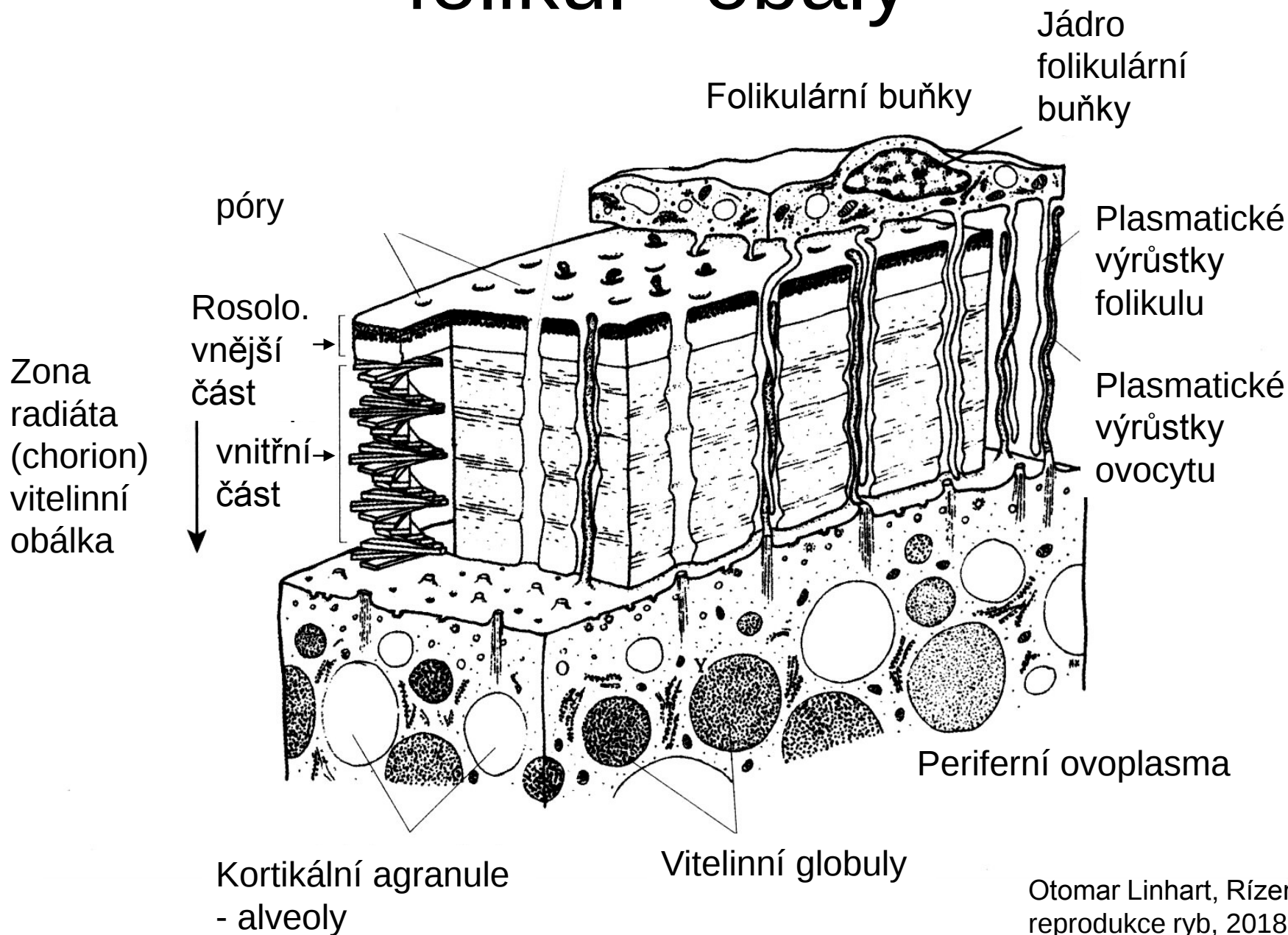
Progesteron je následně odpovědný za vlastní ovulaci.

Obaly folikulu a ovocytu

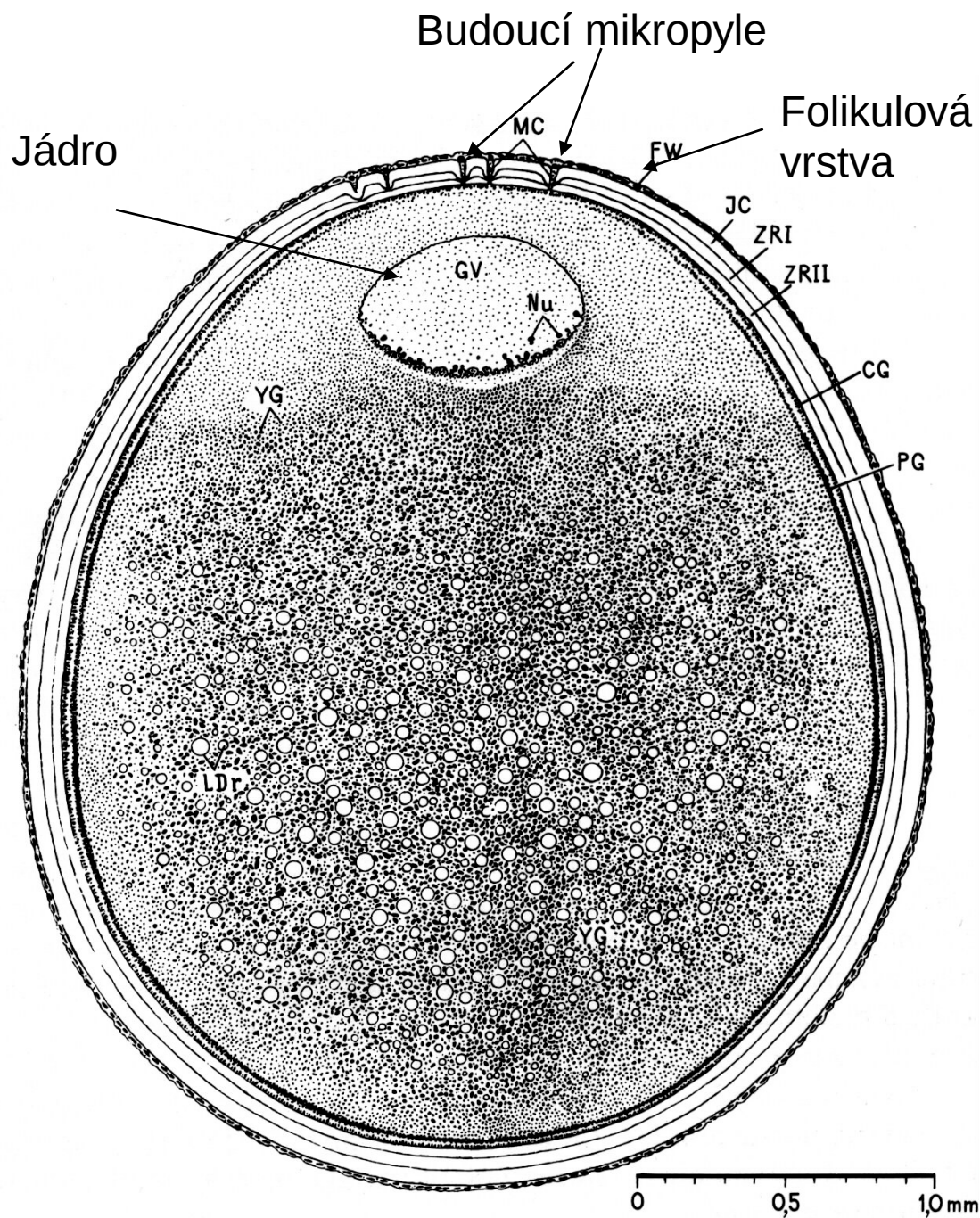
Th – théka, FE – folikulární epitel, JC – rosolovitá vrstva, ZR I a ZR II – zóna radiáta, CL – cortikální vrstva



folikul - obaly



**Folikul
jesetera v
době zrání
s výrazným
jádrom,
zhruba 48-
72 h před
ovulací**



6. Ovulace

- Produkce MIH (indukčně-dozrávacího hormonu) je důležitá pro ovulaci a je ovládaná tzv. nMIHR (jaderný dozrávací indukční receptor).
- Výsledkem stimulace je produkce prostaglandinu.
- Ovulace se skládá z procesu – degradace a prasknutí folikulu (Gráfova) a procesu vypuzení zralého vajíčka do vejcovodu a dále do vnějšího prostředí.
- Ovulace je asociována s degradací zbylého folikulu za účasti progesteronu a prostaglandinu s aktivací proteolytických enzymů.

Přeměna ovocytu I. řádu na ovocyt II. řádu s ovulací po hormonální stimulaci u jesetera při teplotě 17-21 °C

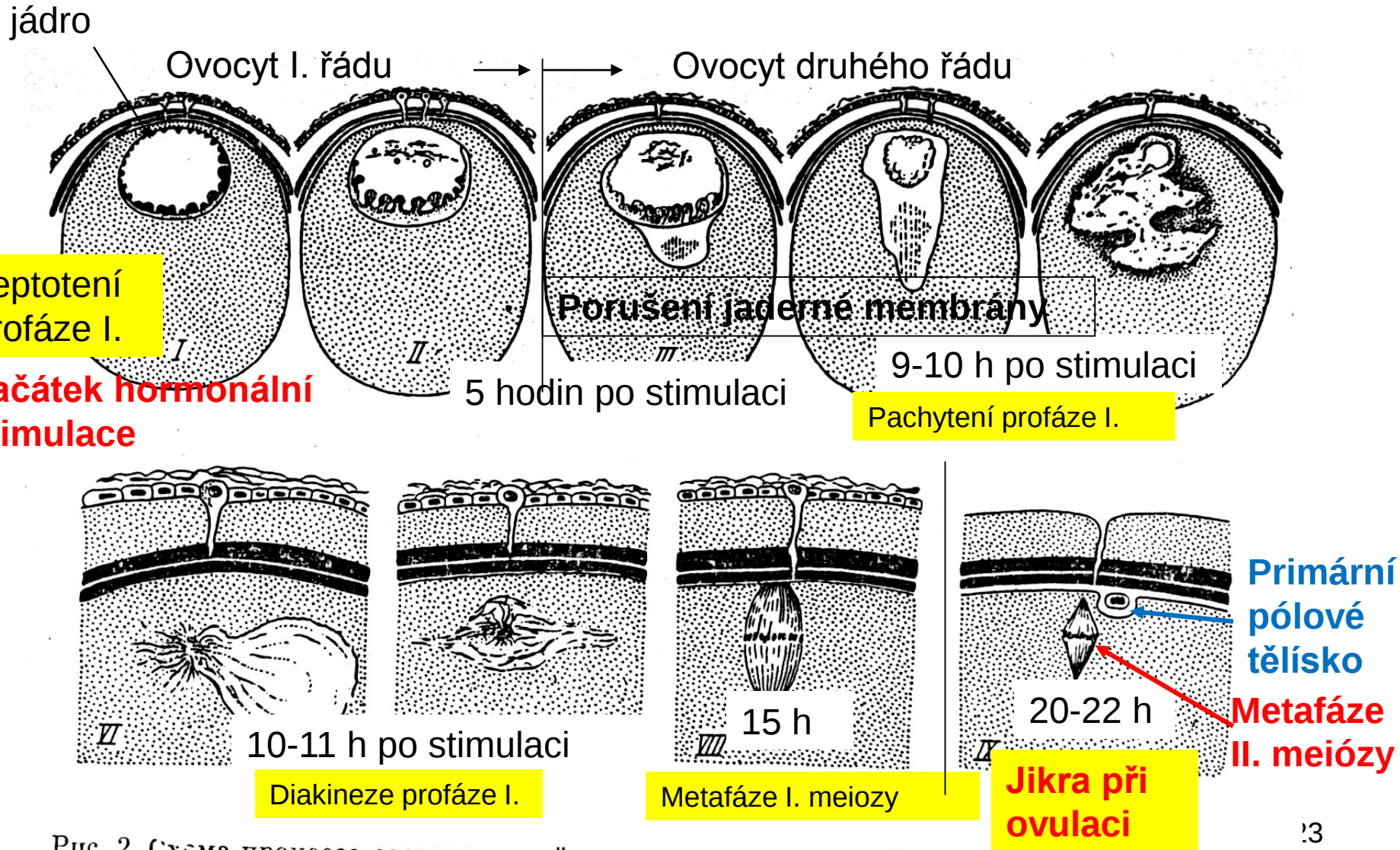
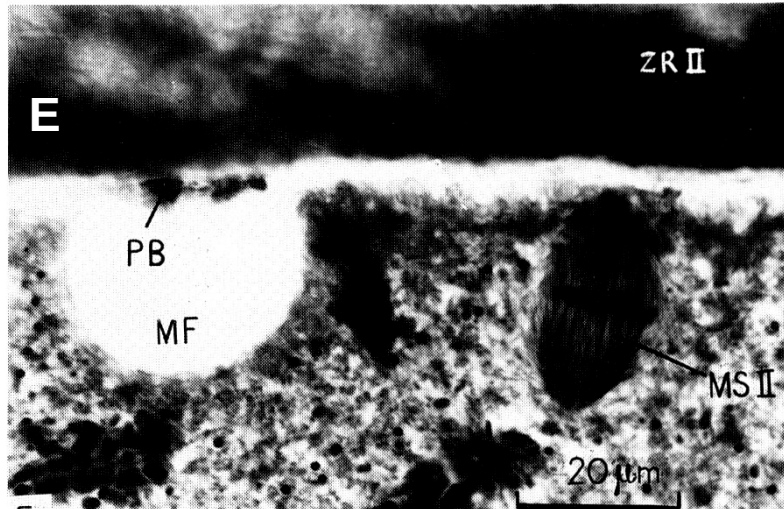
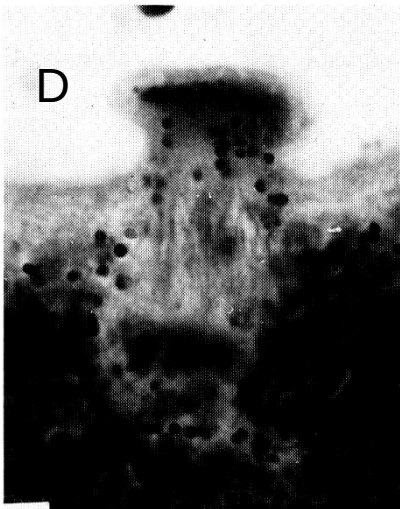
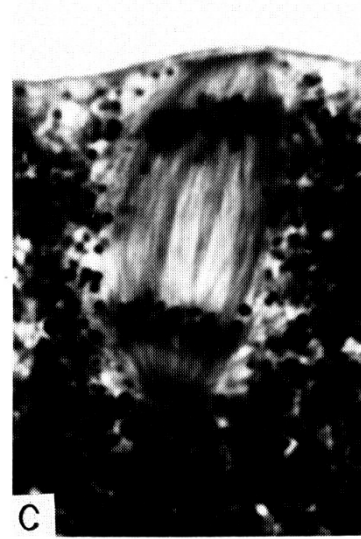
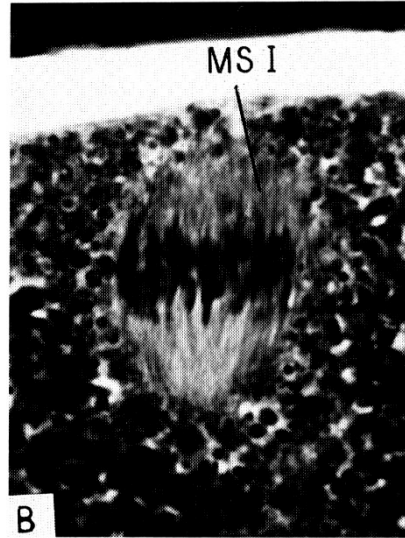
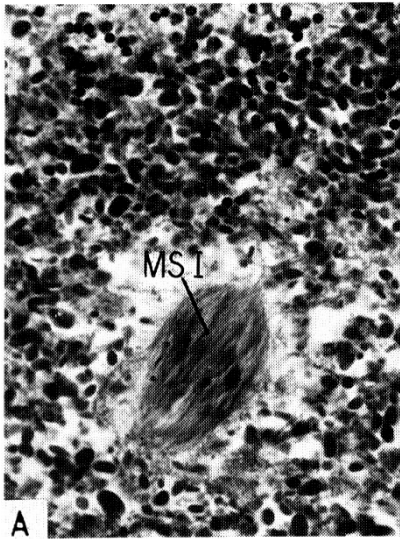


Рис. 2. Схема процесса созревания яйца осетра (по Казанскому, 1957)

Температура 17,3—20,8°. Объяснение в тексте

Detail závěrečné meiózy



A – profáze-
metafáze I.

B – metafáze I.

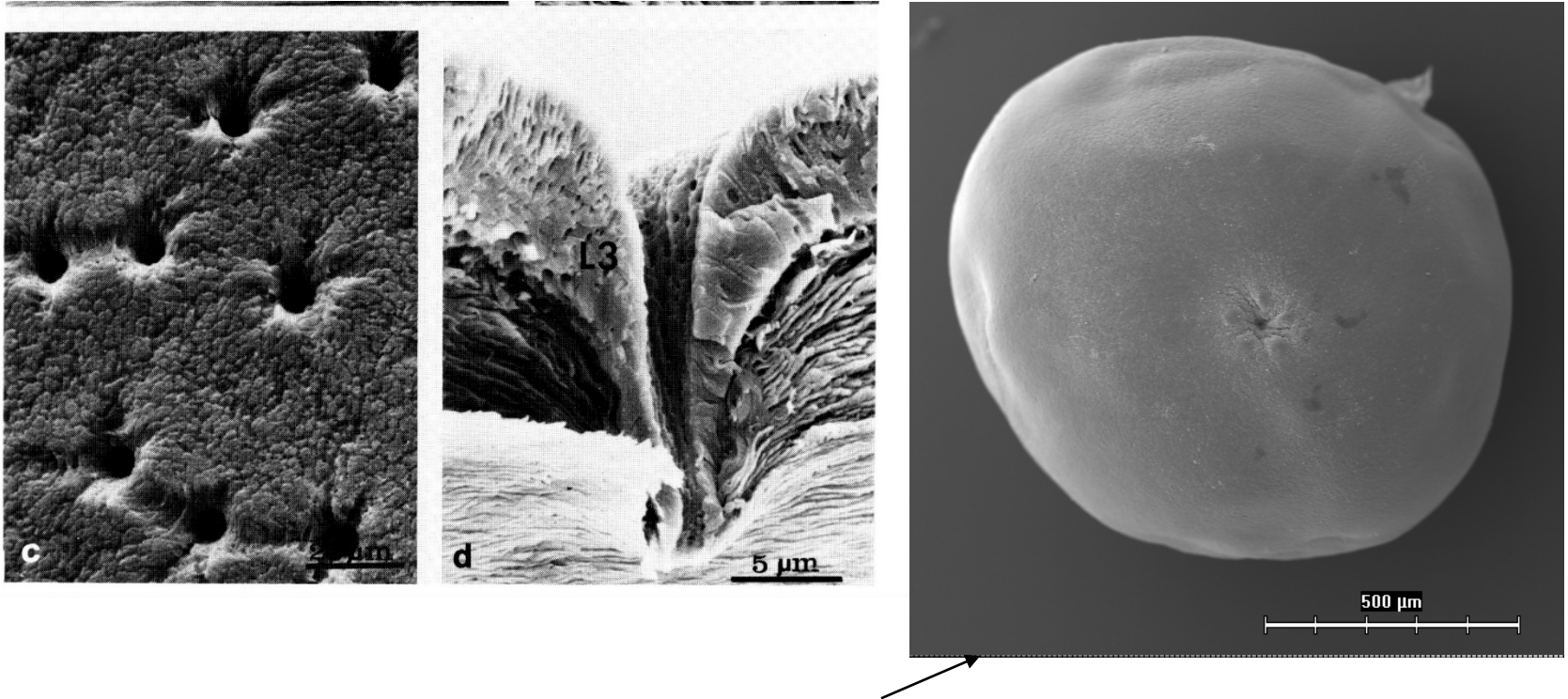
C – anafáze I.

D – telofáze I.

E – metafáze II.
Meiozy

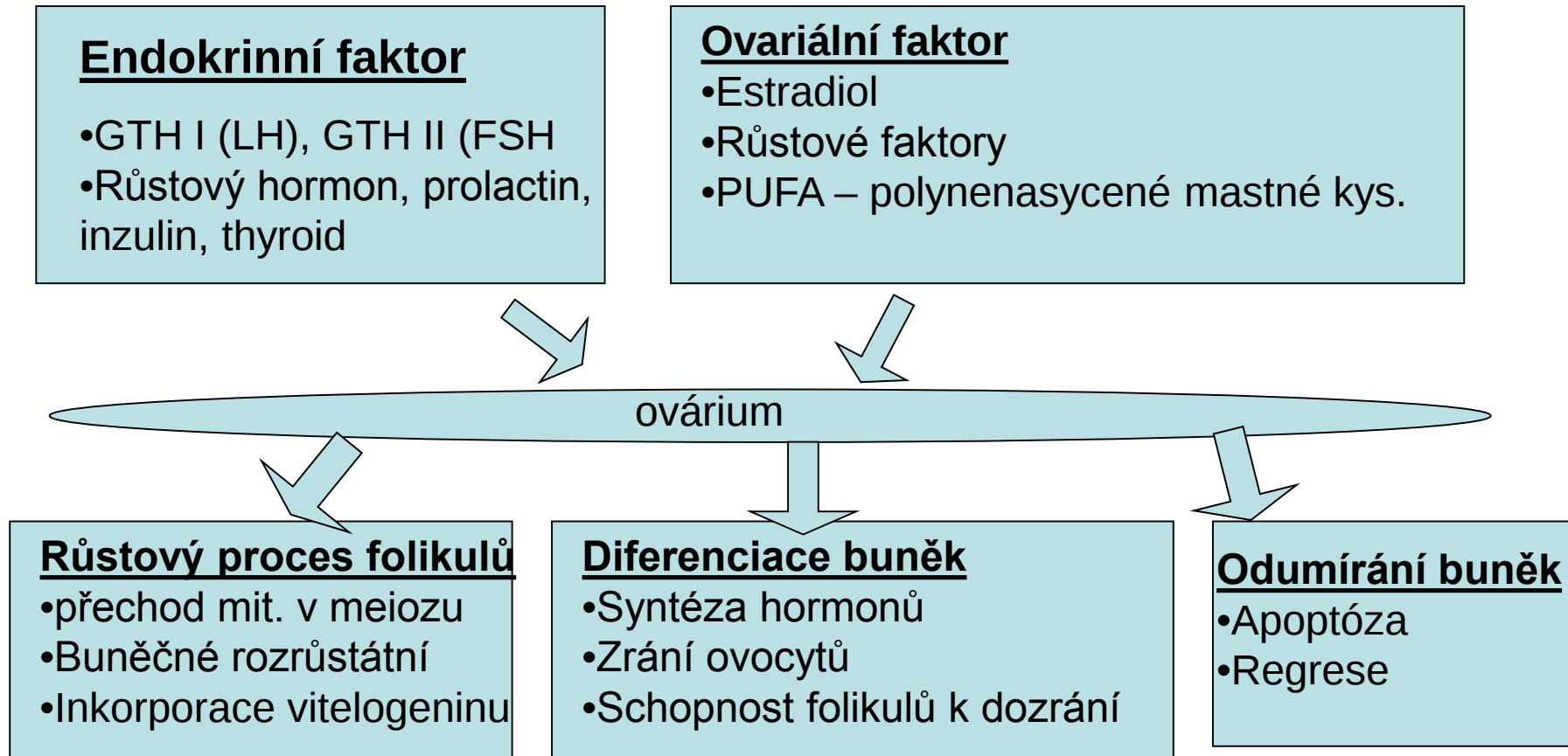
PB – první
polární tělísko

Mikropyle v jikře, u kostnatých ryb jedno mikropyle (d) u chrupavčitých několik mikropylárních otvorů ©

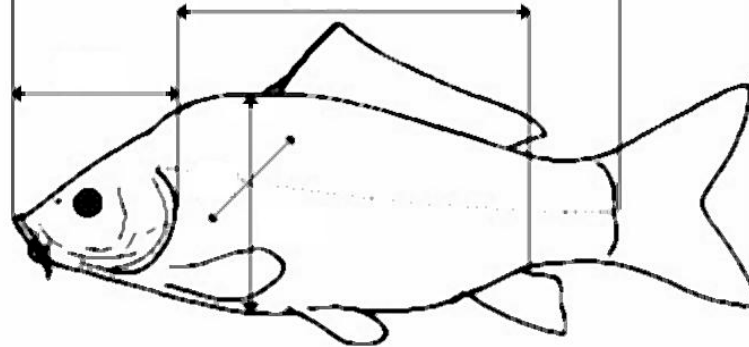


Jikra lína obecného s mikropylárním otvorem

Endokrinní regulace folikulogeneze



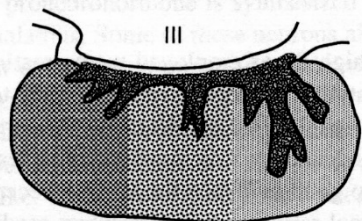
Endokrionní rozvoj ovogeneze



Hypotalamus

Mozek

Produkce GnRH I, II



**Adenohypofýza
produkce GTH I
a II**

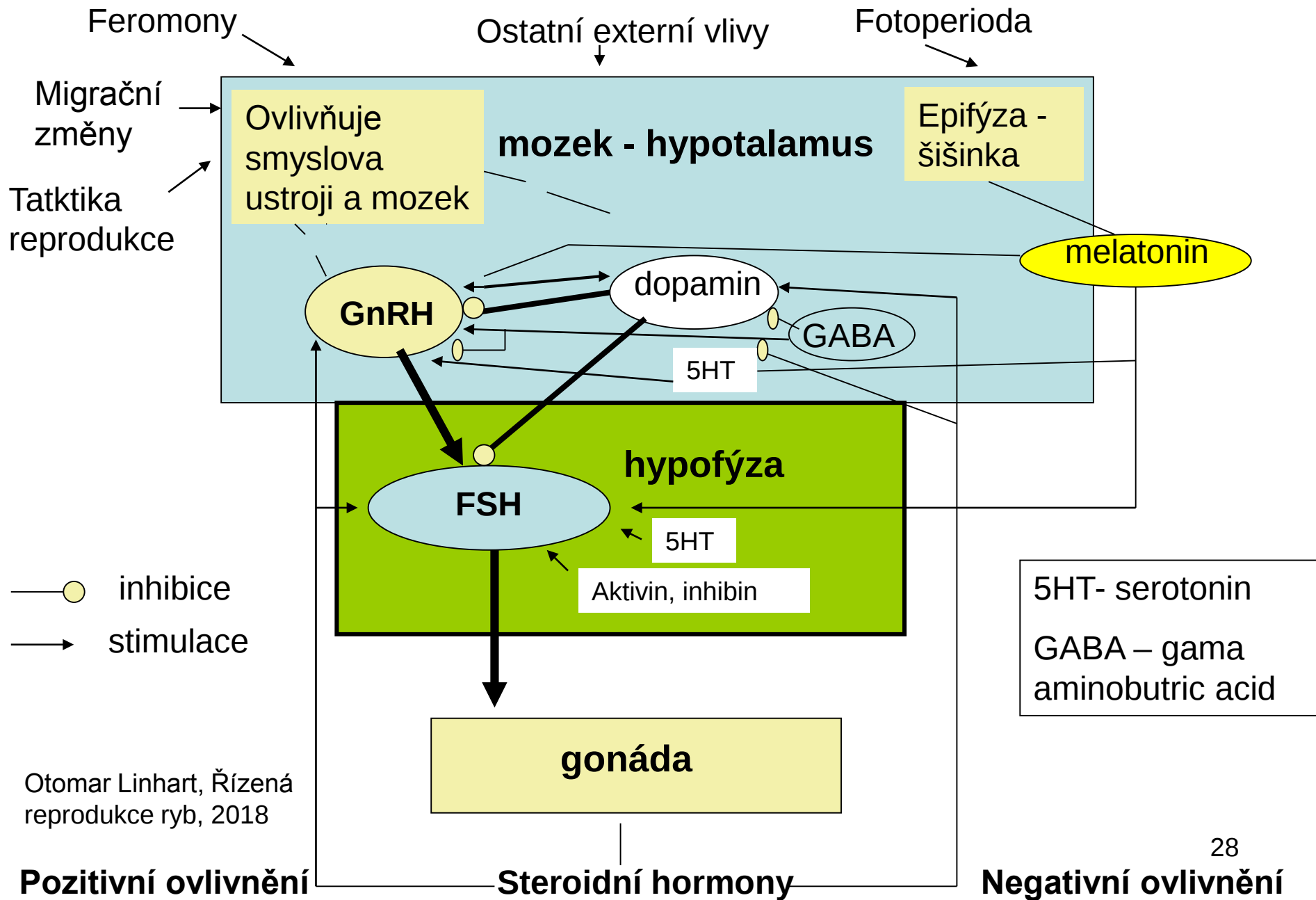
Hypofýza

**Folikuly, zárodečné a pohlavní
buňky**

Gonáda

**Produkce steroidů
17 beta estradiolu**

Sekrece FSH (GTH II) u jikernaček



Hypotalamus a hypofyzární faktory ovlivňující vylučování FSH (viz. Schéma)

- Vícenásobné faktory stimulují FSH viz. schéma především GnRH, serotonin, activin, neuropeptid.
- Inhibiční faktory kontrolující sekreci FSH jsou způsobeny dopaminem, který je kontrolován vzrůstající sekrecí GnRH a steroidy s regulací GABA (GABA reguluje a stimuluje rovněž GnRH). Především funguje u kaprovitých ryb.
- Faktory prostředí a externí faktory kontrolují přímo nebo nepřímo přes GnRH - FSH, především přes úroveň melatoninu.
- Sexuální steroidy ovládají pozitivně a negativně jak sekreci GnRH tak následně FSH.

GnRH

- GnRH je vylučován z hypotalamu, rozeznáváme tzv. lososí GnRH (sGnRH) nebo slepičí GnRH II (cGnRH – II).
- Jako super aktivní analog syntetický připravený je znám [D-Arg⁶, Pro¹⁰ – Net]-sGnRH a další analogy.
- Intracelulární vyloučení GnRH je zprostředkováno kaskádou intracelulárních vlivů především prostřednictvím Ca kanálu s funkcí při určitém pH a úrovni iontů Na a K.

Indukce ovulace a výtěru

A) Cestou hypofyzární

- Hypofýza čerstvá nebo acetonová se rozetře ve fyziologickém roztoku a injikuje jikernačce. Poprvé publikováno v roce 1937 v Brazílii. Používá se dodnes.
- Nebo se používá tzv. kalibrovaný extrakt kapří hypofýzy (CPE) s vyváženým množstvím GTH.
- Nebo byl v Izraeli využíván tzv. vyčištěný extrakt GTH.

Indukce výtěru

B) Cestou přes hypotalamus

- Použitím super aktivních analogů GnRH. U lososovitých ryb a lína bez nutnosti použití dopaminových inhibitorů.
- U kaprovitých především kapra použití tzv. „Linpeho metody“, kdy se GnRHa kombinuje s domperidonem, pimozidem nebo metoclopramidem.

Srovnání obou metod u kapra

- Hypofyzární – „koktejl“ různých hormonů se dostává do jikernačky. Pokud po hypofyzární injekci nenastane ovulace, dochází následně k apoptotickým stavům. Z hlediska endokrinního je nejvyšší úroveň GTH dosažena předčasně 3 h před zvýšením úrovně prostaglandinu (3 h před výtěrem).
- „Linpeho metoda“ GnRHa + dopamine – pokud nedojde k ovulaci a výtěru je možné injekci opakovat. Z hlediska endokrinní úrovně je nejvyšší úroveň GTH naměřena v době výtěru a úrovně prostaglandinu (nutná k prasknutí folikulu) 3 h před výtěrem.