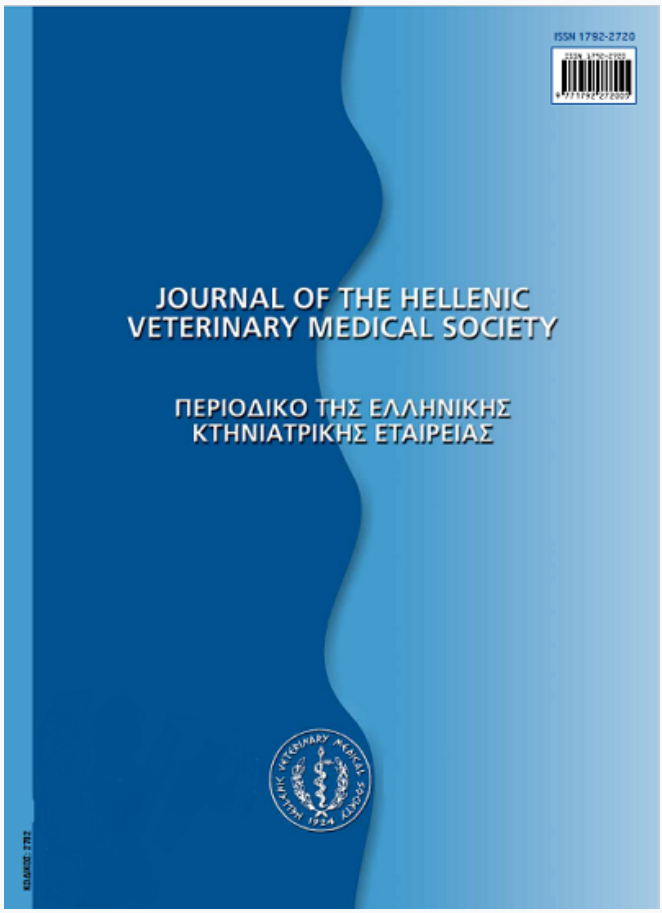
ePublishing

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 63, No 2 (2012)



Involvement of the plasminogen activation system in mammalian reproduction

M. TSANTARLIOTOU (Μ. ΤΣΑΝΤΑΡΛΙΩΤΟΥ), V. SAPANIDOU (Β.ΣΑΠΑΝΙΔΟΥ), I. ZERVOS (Ι. ΖΕΡΒΟΣ), S. LAVRENTIADOU (Σ. ΛΑΥΡΕΝΤΙΑΔΟΥ), I. TAITZOGLOU (Ι. ΤΑΪΤΖΟΓΛΟΥ), N. KOKOLIS (Ν. ΚΟΚΟΛΗΣ)

doi: 10.12681/jhvms.15427

To cite this article:

TSANTARLIOTOU (Μ. ΤΣΑΝΤΑΡΛΙΩΤΟΥ) M., SAPANIDOU (Β.ΣΑΠΑΝΙΔΟΥ) V., ZERVOS (Ι. ΖΕΡΒΟΣ) I., LAVRENTIADOU (Σ. ΛΑΥΡΕΝΤΙΑΔΟΥ) S., TAITZOGLOU (Ι. ΤΑΪΤΖΟΓΛΟΥ) I., & KOKOLIS (Ν. ΚΟΚΟΛΗΣ) N. (2017). Involvement of the plasminogen activation system in mammalian reproduction. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *63*(2), 113–126. https://doi.org/10.12681/jhvms.15427

https://epublishing.ekt.gr | **e-Publisher:** EKT | **Downloaded at:** 06/08/2025 21:22:34

J HELLENIC VET MED SOC 2012, 63(2): 113-126
ΠΕΚΕ 2012, 63(2): 113-126

Review article
Ανασκόπηση

Involvement of the plasminogen activation system in mammalian reproduction

Tsantarliotou M., Sapanidou V., Zervos I., Lavrentiadou S., Taitzoglou I., Kokolis N.†

Ο ρόλος των ενεργοποιών του πλασμινογόνου και της πλασμίνης στην αναπαραγωγή των θηλαστικών

Μ. Τσανταρλιώτου, Β. Σαπανίδου, Ι. Ζερβός, Σ. Λαυρεντιάδου, Ι. Ταϊτζόγλου, Ν. Κοκόλης†

Abstract
The current knowledge of the role of local and directed fibrinolysis controlled by plasminogen activators (PAs) and regulated by plasminogen activator inhibitors (PAIs) in reproduction is summarized. The PA system has been found to play an important role in spermatogenesis in testis and modulation of sperm maturation in epididymis while a lot of studies indicate a role for sperm or seminal plasma PAs in sperm hyperactivation and/or capacitation. Hormone-induced expression of tissue-type PA (tPA) and PAI-1 in the ovary is involved in the processes of ovulation and luteal regression; increases of urokinase-type PA (uPA) and PAI-1 in the early stage of luteinized follicles may be responsible for ovarian tissue remodeling and angiogenesis. The targeted proteolytic activity plays an essential role in the processes of the cyclic uterine angiogenesis, implantation and placentation as well as in the parturition. As the PA system is involved in multiple phases of mammalian fertilization specific regulatory molecules of this system provide opportunities for pharmacological intervention.

Keywords: ultrasonography, udder, teats, male, ruminants

Περίληψη
Στην παρούσα εργασία γίνεται μία ανασκόπηση της βιβλιογραφίας που αφορά στη συμμετοχή του ενζυμικού συστήματος «ενεργοποιοί του πλασμινογόνου/πλασμίνη» (ινωδολυτικό σύστημα) σε φυσιολογικές διεργασίες στο γεννητικό σύστημα των θηλαστικών. Στο αρσενικό, οι ενεργοποιοί του πλασμινογόνου και οι αδρανοποιοί τους διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη σπερματογένεση, στην ωρίμανση και στη γονιμοποιητική ικανότητα των σπερματοζωαρίων. Στο θηλυκό, η τοπικά ελεγχόμενη πρωτεολυτική δραστηριότητα των ενεργοποιών του πλασμινογόνου από τους αδρανοποιούς τους συμβάλλει σημαντικά στην πραγματοποίηση της ωοθυλακιορρηξίας, της γονιμοποίησης στον ωαγωγό, της εμφύτευσης του εμβρύου στη μήτρα, στη διατήρηση της κυοφορίας και στην παλινδρόμηση της μήτρας μετά τον τοκετό. Η δραστηριότητα του πρωτεολυτικού αυτού συστήματος μπορεί να επηρεαστεί από ποικίλους παράγοντες, όπως ορμόνες, φάρμακα, βιταμίνες, αλλά και φυσιολογικές και παθολογικές διεργασίες, με ποικίλα αποτελέσματα στη φυσιολογία του αναπαραγωγικού συστήματος.

Λέξεις-κλειδιά: ενεργοποιός του πλασμινογόνου, πλασμίνη, σπερματοζωάριο, ωοκύτταρο, αναπαραγωγή

Correspondence: M. Tsantarliotou
Laboratory of Physiology, School of Veterinary Medicine,
Aristotle University, 541 24 Thessaloniki, Greece
Tel.: +30 2310 999863, Fax: +30 2310 999861, e-mail: mtsant@vet.auth.gr

Αλληλογραφία: Μ. Τσανταρλιώτου
Εργαστήριο Φυσιολογίας, Κτηνιατρική Σχολή,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 541 24 Θεσσαλονίκη
Τηλ.: +30 2310 999863, Fax: +30 2310 999861, e-mail: mtsant@vet.auth.gr

Submission date: 01.12.2011
Acceptance date: 02.05.2012

Ημερομηνία υποβολής: 01.12.2011
Ημερομηνία αποδοχής: 02.05.2012

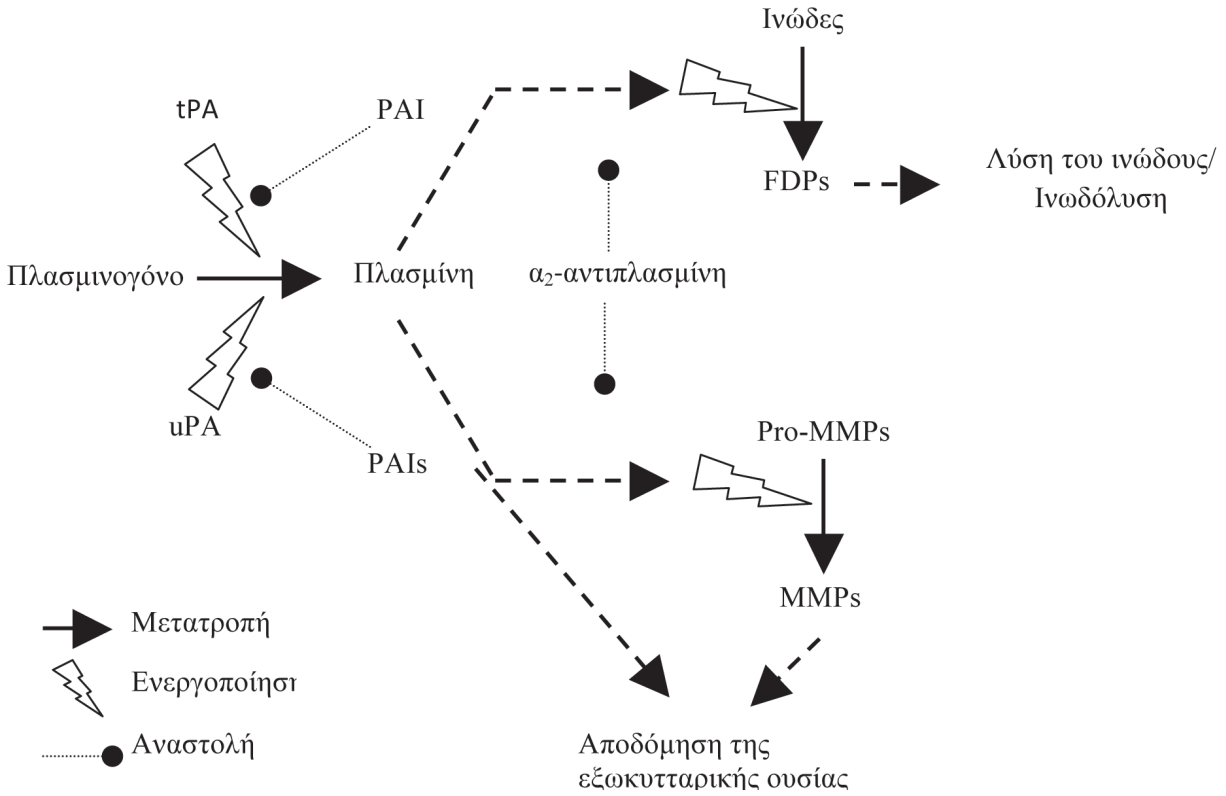
* *Το άρθρο αυτό αφιερώνεται στη μνήμη του αγαπημένου δασκάλου μας Ν.Α. Κοκόλη*

Υπεύθυνος επιμελητής σύνταξης: Α. Τυρπένου

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το ενζυμικό σύστημα «ενεργοποιοί του πλασμινογόνου/πλασμίνη» ή ινωδολυτικό σύστημα αποτελείται κυρίως από το προένζυμο πλασμινογόνο, τους ενεργοποιούς του πλασμινογόνου που μετατρέπουν το πλασμινογόνο σε πλασμίνη, την πλασμίνη, το δραστικό ένζυμο του συστήματος, τους αδρανοποιούς των ενεργοποιών του πλασμινογόνου και τους αδρανοποιούς της πλασμίνης (Σχήμα 1). Η πλασμίνη, που παράγεται από την ενεργοποίηση του πλασμινογόνου, είναι μία ευρέως φάσματος πρωτεϊνάση του τύπου της σερίνης (Ser), η οποία μπορεί να αποδομεί το ινώδες, που αποτελεί το τελικό προϊόν της πήξης του αίματος και να μετατρέπει ανενεργά ένζυμα της μεσοκυτταρικής ουσίας στις ενεργές μορφές τους, όπως την προελαστάση σε ελαστάση και την προκολλαγενάση σε κολλαγενάση. Με τον τρόπο αυτό συμμετέχει και σε πρωτεολυτικές εξεργασίες στη μεσοκυτταρική θεμελιακή ουσία, όπως είναι η αποδόμηση των πρωτεογλυκανών, της ινωδονεκτίνης, του κολλαγόνου και της λαμινίνης (Dano και συν. 1985).

Δύο τύποι ενεργοποιών του πλασμινογόνου (plasminogen activators, PAs) απαντούν στον οργανισμό των θηλαστικών: Ο ενεργοποιός του πλασμινογόνου του ιστικού τύπου (tissue-type plasminogen activator, tPA) και ο ενεργοποιός του πλασμινογόνου του τύπου της ουροκινάσης (urokinase-type plasminogen activator, uPA). Τα περισσότερα κύτταρα συνθέτουν και εκκρίνουν είτε μόνον τον έναν ή και τους δύο τύπους ενεργοποιών του πλασμινογόνου με τη μορφή προενζύμου, με μικρή ενζυμική δραστηριότητα. Η παραπέρα ενεργοποίηση αυτών των ενζυμικών μορφών ρυθμίζεται από την ίδια την παραγόμενη πλα-



Σχήμα 1. Στο σχήμα 1 απεικονίζεται η ρύθμιση της ενζυμικής δραστηριότητας του συστήματος «ενεργοποιοί του πλασμινογόνου/πλασμίνη». Η πλασμίνη που παράγεται, μετά από ενεργοποίηση του πλασμινογόνου από τους ενεργοποιούς του πλασμινογόνου του ιστικού τύπου (tPA) ή του τύπου της ουροκινάσης (uPA), οδηγεί είτε στη λύση του ινώδους είτε στην αποδόμηση της εξωκυτταρικής θεμελιακής ουσίας, αντιστοίχως. **PAIs:** Αδρανοποιοί των ενεργοποιών του πλασμινογόνου, **FDPs:** Προϊόντα αποδόμησης ινώδους, **MMPs:** Μεταλλοπρωτεϊνάσες της εξωκυτταρικής θεμελιακής ουσίας, **Pro-MMPs:** Πρόδρομες (μη ενεργές μορφές) μεταλλοπρωτεϊνασών (Tsantarliotou και συν. 2008a).

σμίνη αλλά και από άλλες πρωτεϊνάσες (Saksela 1985).

Οι ενεργοποιοί του πλασμινογόνου έχουν απομονωθεί από ενδοθηλιακά, επιθηλιακά, νευρικά, μυϊκά, αδενικά κύτταρα αλλά και από ερυθροκύτταρα, λευκοκύτταρα, αιμοπετάλια, ωοκύτταρα, σπερματοζωάρια κ.ά. Ακόμη, οι ενεργοποιοί του πλασμινογόνου απαντούν σε όλα τα υγρά του σώματος, τις εκκρίσεις και απεκκρίσεις, όπως είναι το πλάσμα του αίματος, η λέμφος, τα δάκρυα, το εγκεφαλονωτιαίο υγρό, το πλάσμα του σπέρματος, το ωοθυλακικό υγρό, το τραχηλικό έκκριμα, κ.ά. (Saksela 1985, Kruithof 1988).

Οι δραστηριότητες των ενεργοποιών του πλασμινογόνου και της πλασμίνης αναστέλλονται από ειδικούς αδρανοποιούς αυτών των πρωτεϊνασών. Οι αδρανοποιοί αυτοί εμποδίζουν την ανεξέλεγκτη εξωκυτταρική πρωτεολυτική δραστηριότητα περιορίζοντάς την σε συγκεκριμένες μόνο θέσεις, δηλαδή σε ειδικούς υποδοχείς στην επιφάνεια του κυττάρου ή στο ίδιο το ινώδες. Η σύνδεση των ενεργοποιών του πλασμινογόνου σε ειδικές θέσεις τους προστατεύει από την άμεση αποδόμησή τους, ενώ η σύνδεσή τους με το πλασμινογόνο στο ινώδες ή στους κυτταρικούς υποδοχείς αυξάνει την πρωτεολυτική δραστηριότητά τους και την παραγόμενη πλασμίνη.

ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΟΙ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟΥ

Ενεργοποιός του πλασμινογόνου του ιστικού τύπου (tissue-type plasminogen activator-tPA)

Ο tPA είναι μία γλυκοπρωτεΐνη που αποτελείται από 530 αμινοξέα με μοριακό βάρος 70kDa (Saksela 1985). Κατά κύριο λόγο εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων και το γονίδιο που κωδικοποιεί την παραγωγή του στον άνθρωπο βρίσκεται στο όγδοο χρωματόσωμα (van Hinsbergh 1988). Ο tPA επιδρά στο πλασμινογόνο και το μετατρέπει σε πλασμίνη, η οποία αποδομεί το ινώδες στα τελικά προϊόντα αποδόμησής του (Fibrin Degradation Products, FDPs), γεγονός που οδηγεί σε λύση του θρόμβου (Gaffney 1975).

Όπως προαναφέρθηκε, ο tPA παρουσιάζει μεγάλη προσροφητική ικανότητα ως προς το ινώδες σε θέσεις όπου το πλασμινογόνο είναι παρόν, προκειμένου να εκδηλώσει το μέγιστο της δράσης του (Suenson και συν. 1984). Η αναστολή της δράσης του επιτυγχάνεται είτε άμεσα από ειδικούς αδρανοποιούς των ενεργοποιών του πλασμινογόνου, είτε έμμεσα από τους αδρανοποιούς της πλασμίνης (Wiman 1995). Κατά αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται μία ισορροπία μεταξύ του μηχανισμού πήξης του αίματος και της ινωδόλυσης, προκειμένου να αποφευχθεί τόσο η έντονη αιμορραγία όσο και η δημιουργία εμφράκτων και ισχαιμικών φαινομένων εξαιτίας της παρουσίας θρόμβων.

Η δράση του tPA δεν περιορίζεται μόνο στην ινωδόλυση αφού έχει διαπιστωθεί η συμμετοχή του και σε άλλα φαινόμενα, άσχετα με την ενεργοποίηση της πλασμίνης, όπως είναι η σύνδεσή του με πρωτεΐνες της κυτταρικής επιφάνειας και η σηματοδότηση ενδοκυτταρικών αντιδράσεων (Zhuo και συν. 2000, Wang και συν. 2003, Fernandez-Monreal και συν. 2004). Η απομάκρυνσή του από τον οργανισμό γίνεται μέσω του ήπατος και συγκεκριμένα από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αιμοφόρων αγγείων και τα κύτταρα του ηπατικού παρεγχύματος στα οποία υπάρχουν ειδικοί υποδοχείς για το σκοπό αυτό (Otter 1992).

Ενεργοποιός τ ου πλασμινογόνου του τύπου της ουροκινάσης (urokinase-type plasminogen activator-uPA)

Ο uPA είναι μία γλυκοπρωτεΐνη που αποτελείται από 411 αμινοξέα, ενώ το γονίδιο που κωδικοποιεί την έκφρασή του βρίσκεται στο χρωματόσωμα 10. Το ανενεργό προένζυμο (προ-uPA) εκκρίνεται από τα κύτταρα του νεφρού, αλλά και από πληθώρα φυσιολογικών και νεοπλασματικών κυττάρων (Dano και συν. 1985). Με την καταλυτική επίδραση της πλασμίνης μετατρέπεται στον ενεργό uPA (Saksela 1985), με μοριακό βάρος 50kDa (Blasi και συν. 1987).

Σε αντίθεση με τον tPA, ο uPA είναι μία λιγότερο ειδική πρωτεϊνάση που δρα μέσω κυτταρικού υποδοχέα, του οποίου το mRNA εκφράζεται σε διαφορετικά είδη κυττάρων (Rijken και Groeneveld 1991). Σε αυτόν τον υποδοχέα συνδέεται το πλασμινογόνο, και αυξάνονται έτσι οι πιθανότητες ενεργοποίησης του τελευταίου. Η σύνδεση του uPA στον υποδοχέα και η παραγωγή πλασμίνης οδηγούν αφενός στην ενεργοποίηση μεταλλοπρωτεϊνασών, οι οποίες αποδομούν την εξωκυτταρική θεμελιακή ουσία και αφετέρου στην ενεργοποίηση ή απελευθέρωση πληθώρας αυξητικών παραγόντων, όπως ο μεταμορφωτικός αυξητικός παράγοντας β1 (Transforming Growth Factor, TGFβ1), ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) κ.ά. (Alfano και συν. 2005). Ξεκινά κατά αυτόν τον τρόπο

μία αλυσιδωτή σειρά φαινομένων, φυσιολογικών ή παθολογικών, η οποία καταλήγει στην ανανέωση της θέσης και της σχέσης των κυττάρων, στην αναδόμηση των ιστών ή στη μετάσταση των νεοπλασματικών κυττάρων. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ του uPA και του υποδοχέα του συμβάλλουν στη διαδικασία της κυτταρικής διαφοροποίησης και επιβίωσης, στη χωροταξική αναδιάταξη των οργανιδίων του κυτταροπλάσματος μετά την κυτταρική διαίρεση καθώς και στην προσκόλληση των κυττάρων (Crippa 2007). Οι αδρανοποιοί των ενεργοποιών του πλασμινογόνου αναστέλλουν μόνο την ενεργή μορφή του uPA, τροποποιώντας τη δράση του τελευταίου (Vassali και συν. 1984, Andreasen και συν. 1986).

Πλασμινογόνο

Το πλασμινογόνο είναι μία γλυκοπρωτεΐνη που αποτελείται από 791 αμινοξέα και έχει μοριακό βάρος 90kDa (Saksela 1985). Το γονίδιο που κωδικοποιεί την παραγωγή του εντοπίζεται στο χρωματόσωμα 6. Με την επίδραση των ενεργοποιών του πλασμινογόνου μετατρέπεται στο ενεργό ένζυμο πλασμίνη. Η σύνθεση του πλασμινογόνου λαμβάνει χώρα κατά κύριο λόγο στα ηπατικά κύτταρα (Raum και συν. 1980) και απαντάται στο εξωκυτταρικό υγρό (Dano και συν. 1985).

Αδρανοποιοί των ενεργοποιών του πλασμινογόνου και αδρανοποιοί της πλασμίνης (plasminogen activators inhibitors-PAIs / plasmin inhibitors-PIs)

Οι αδρανοποιοί των ενεργοποιών του πλασμινογόνου και αυτοί της πλασμίνης είναι ουσίες πρωτεϊνικής φύσης, οι οποίες ελέγχουν τη δραστηριότητα των παραγόντων αυτών. Οι αδρανοποιοί των ενεργοποιών του πλασμινογόνου είναι ο αδρανοποιός των ενεργοποιών του πλασμινογόνου 1, 2 και 3 (PAI 1,2,3) και η πρωτεϊνάση νεξίνη (Kruithof 1988) και σε πολλούς ιστούς παράγονται από τα ίδια τα κύτταρα που συνθέτουν και τους ενεργοποιούς του πλασμινογόνου. Οι αδρανοποιοί της πλασμίνης είναι η α2-αντιπλασμίνη και η α2-μακροσφαιρίνη και παράγονται στο ήπαρ (Saksela 1985).

Ο PAI-1 θεωρείται ο ταχύτερος και αποτελεσματικότερος αδρανοποιός του tPA και του uPA (Andreasen και συν. 1986). Ο PAI-2 αδρανοποιεί κυρίως τον uPA, ενώ ο PAI-3, ταυτίζεται με τον αδρανοποιό της πρωτεΐνης C (Geiger 1988) και ελέγχει κυρίως τη δραστηριότητα του uPA (Dobrovolsky και Tiateva 2002). Σε ό,τι αφορά στη νεξίνη, δεν πρόκειται για ειδικό αναστολέα, αφού ελέγχει τη δράση πρωτεϊνασών του τύπου της θρυψίνης (Kruithof 1988). Σε σχέση με τους αδρανοποιούς της πλασμίνης, η α2-μακροσφαιρίνη είναι ο κυριότερος αναστολέας της (Saksela 1985), παρόλο που και άλλοι μη ειδικοί παράγοντες μπορούν να διαδραματίσουν ρυθμιστικό ρόλο.

Η έρευνα που έχει εκπονηθεί τα τελευταία τριάντα χρόνια και η οποία καταδεικνύει την παρουσία του συστήματος των ενεργοποιών του πλασμινογόνου σε διάφορα κύτταρα και υγρά του σώματος, υποδεικνύει τη συμμετοχή του συστήματος σε μία πληθώρα φυσιολογικών αλλά και παθολογικών εξεργασιών, μεταξύ των οποίων είναι η ωοθυλακιορρηξία (Kokolis και συν. 1987, Smokovitis και συν. 1988), η σπερματογένεση (Vihko και συν. 1987), η παλινδρόμηση της μήτρας μετά τον τοκετό (Shimada και συν. 1985), η μετάσταση των νεοπλασματικών κυττάρων διαφόρων τύπων (Duffy και συν. 1999), οι εκφυλιστικές νόσοι του κεντρικού νευρικού συστήματος, όπως η νόσος Alzheimer και η σκλήρυνση κατά πλάκας (Akenami και συν. 1999, Wee Yong και συν. 2001), η ουλίτιδα και η περιοδοντίτιδα στο σκύλο (Papadimitriou και συν. 2006), η ενδομητρίτιδα στην αγελάδα (Moraitis και συν. 2004), η παραφυματίωση στο πρόβατο και την αίγα (μη δημοσιευμένα αποτελέσματα). Στην παρούσα ανασκόπηση εξετάζεται διεξοδικά η συμμετοχή των ενεργοποιών του πλασμινογόνου και της πλασμίνης στην αναπαραγωγή των θηλαστικών.

ΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΡΣΕΝΙΚΟΥ

Σπερματογένεση (Spermatogenesis)

Η σπερματογένεση είναι μία πολύπλοκη διεργασία, η οποία λαμβάνει χώρα στο επιθήλιο των σπερματικών σωληναρίων και περιλαμβάνει μια σειρά από μιτωτικές και μειωτικές διαιρέσεις που ρυθμίζονται από ενδοκρινείς και παρακρινείς ή/και αυτοκρινείς μηχανισμούς (Liu 2005). Τα σπερματοζωάρια των θηλαστικών υφίστανται μία σειρά μορφολογικών, βιοχημικών και φυσιολογικών μεταβολών αρχικά στον όρχι και ακολούθως στην επιδιδυμίδα. Οι τροποποιήσεις αυτές πραγματοποιούνται υπό τον έλεγχο της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (Follicle Stimulating Hormone, FSH) και της ωχρινοποιητικής ορμόνης (Luteinizing Hormone, LH), των οποίων η έκκριση ρυθμίζεται από την απε-

λευθερωτική ορμόνη των γοναδοτρόπων ορμονών (Hypothalamus Gonadotropin Releasing Hormone, GnRH) του υποθαλάμου. Υπό την επίδραση αυτών των ορμονών εκκρίνονται από τα διάμεσα κύτταρα του Leydig τα ανδρογόνα, εκ των οποίων το κυριότερο είναι η τεστοστερόνη. Επειδή τα σπερματογόνια στερούνται υποδοχέων για την FSH και την τεστοστερόνη, τα ορμονικά ερεθίσματα μεταβιβάζονται μέσω των κυττάρων του Sertoli και εκείνων που περιβάλλουν τα σπερματικά σωληνάρια, με την παραγωγή κυτταροκινών αλλά και άλλων παραγόντων που δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως (de Kretser και συν. 1998). Η παραγωγή ενεργοποιών του πλασμινογόνου και άλλων πρωτεϊνασών από τα κύτταρα του όρχι εξυπηρετεί την αναδόμηση του ορχικού ιστού που σχετίζεται με τη μεταφορά των σπερματοκυττάρων, τη λύση των κυτταρικών συνδέσεων στα κύτταρα του Sertoli και την απελευθέρωση ώριμων σπερματοζωαρίων στον αυλό των σπερματικών σωληναρίων (Zhang και συν. 1997).

Μεγάλος αριθμός μελετών υποδεικνύει τη συμμετοχή των ενεργοποιών του πλασμινογόνου, της πλασμίνης και των αδρανοποιών τους σε διαδικασίες τοπικής πρωτεόλυσης κατά τη σπερματογενέση (Liu και συν. 1995, 1996, Zhang και συν. 1997). Με την τεχνική του in-situ υβριδισμού έχει πιστοποιηθεί η σύνθεση mRNA του tPA και του uPA από τα κύτταρα του Sertoli (Vihko και συν. 1987, 1989), ενώ το mRNA του PAI-1 έχει εντοπιστεί στα σπερματογόνια του όρχεως τρωκτικών και πρωτευόντων θηλαστικών (Liu 2007). Μάλιστα, οι όρχεις νεαρών θηλαστικών εμφανίζουν μικρότερη έκφραση του tPA συγκριτικά με τους όρχεις των ενηλίκων, ενώ η αύξηση της έκκρισης FSH στο αίμα διεγείρει έντονα τη σύνθεση του tPA από τα κύτταρα του Sertoli, με τον οποίο βρίσκεται σε θετική σχέση. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώνουν το σημαντικό ρόλο που διαδραματίζει ο tPA στη σπερματογένεση (Zhang και συν. 1997). Ακόμη, έχει αποδειχθεί ότι τα σπερματογόνια κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης συνθέτουν και τον υποδοχέα του uPA, ο οποίος έχει εντοπιστεί στην κυτταρική επιφάνεια των σπερματίδων και των ώριμων σπερματοζωαρίων των μυών (Zhou και Vassali 1997). Έτσι, ο uPA, που εκκρίνεται από τα κύτταρα του Sertoli, συνδέεται στους ειδικούς υποδοχείς των σπερματογονίων και ασκεί το φυσιολογικό ρόλο του. Χαρακτηριστική είναι η αυξημένη δραστηριότητα του ενζυμικού συστήματος σε στάδια της σπερματογένεσης, και ιδιαίτερα κατά τη μειωτική διαίρεση, και στο στάδιο της σπερμιογένεσης κατά το οποίο τα σπερματοζωάρια απελευθερώνονται από τα κύτταρα του Sertoli στον αυλό των σπερματικών σωληναρίων (Liu και συν. 1995).

Οι ενεργοποιοί του πλασμινογόνου έχουν ανιχνευθεί στα σπερματοζωάρια και το πλάσμα του σπέρματος του ανθρώπου και άλλων θηλαστικών, όπως ο ταύρος, ο κριός, ο κάπρος, ο τράγος και ο επιβήτορας (Smokovitis και συν. 1987, Zervos και συν. 2010). Στα σπερματοζωάρια οι ενεργοποιοί εντοπίζονται στην εξωτερική ακροσωμιακή μεμβράνη και την κυτταρική μεμβράνη (Smokovitis και συν. 1992a).

Η δραστηριότητα του ενζυμικού συστήματος στα σπερματοζωάρια και στο πλάσμα του σπέρματος εμφανίζει εποχική διακύμανση (Zervos και συν.2010), η οποία στον κριό βρίσκεται σε θετική σχέση με τις εποχικές διακυμάνσεις της τεστοστερόνης (Rekkas και συν. 1993) και επηρεάζεται από πλήθος παραγόντων, όπως είναι η διατροφή (Rekkas και συν. 2000, Zervos και συν. 2005, Kokoli και συν. 2010), οι ορμονικές παρεμβάσεις (Rekkas και συν. 1991, Tsantarliotou και συν. 2008b) και οι χρωματοσωμικές ανωμαλίες (Smokovitis και συν. 1992b). Συγκεκριμένα, η δραστηριότητα των ενεργοποιών του πλασμινογόνου/πλασμίνης στα σπερματοζωάρια του κριού αυξάνεται μετά από χορήγηση α-τοκοφερόλης κατά τη διάρκεια της άνοιξης (άνοιστρη περιόδος των προβάτων), εποχή κατά την οποία οι τιμές της τεστοστερόνης είναι σχετικά χαμηλές και κατά το φθινόπωρο που αποτελεί την περίοδο των συζεύξεων (Rekkas και συν. 2000). Η ανεπάρκεια της βιταμίνης Α σε κριούς μειώνει τη σύνθεση των ενεργοποιών του πλασμινογόνου κατά τη σπερματογένεση, πιθανόν μέσω του ελέγχου της έκφρασης των γονιδίων, παρά το γεγονός ότι η πυκνότητα και ο όγκος του σπέρματος δεν επηρεάζονται (Zervos και συν. 2005).

Μία σημαντική αιτία υπογονιμότητας είναι το οξειδωτικό στρες που υφίστανται τα σπερματοζωάρια εξαιτίας της δράσης των ενεργών ριζών οξυγόνου. Οι Kim και συν. (2009) διαπίστωσαν ότι η αύξηση των ενεργών ριζών οξυγόνου επάγει τη δραστηριότητα των ενεργοποιών του πλασμινογόνου στα σπερματοζωάρια του κάπρου. Σε άλλη πειραματική μελέτη η αύξηση της περιεκτικότητας του σιτηρεσίου κονίκλων σε ω3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, οδήγησε στην αύξηση των επιπέδων των ενεργών ριζών οξυγόνου στα σπερματοζωάρια, ενώ στη συνέχεια η προσθήκη στο σιτηρέσιο ισχυρών αντιοξειδωτικών παραγόντων, όπως είναι οι κατεχίνες του πράσινου τσαγιού, λειτούργησε προστατευτικά έναντι του οξειδωτικού στρες και της λιπιδικής

υπεροξείδωσης, μειώνοντας τόσο τη δραστηριότητα των ενεργοποιών του πλασμινογόνου, όσο και την απόπτωση των σπερματοζωαρίων (Kokoli και συν. 2010). Ακόμη, η γοσσυπόλη, ένα πολυκυκλικό παράγωγο που απομονώνεται από τους σπόρους του βάμβακος και αποδεδειγμένα αναστέλλει τη σπερματογένεση στον όρχι και την ωρίμανση των σπερματοζωαρίων στην επιδιδυμίδα, μειώνει τη δραστηριότητα του ενζυμικού συστήματος των σπερματοζωαρίων in vitro τόσο στον άνθρωπο, όσο και στον κριό (Taitzoglou και συν. 1999). Μείωση της δραστηριότητας των ενεργοποιών του πλασμινογόνου στα σπερματοζωάρια προκάλεσε και το ταννικό οξύ σε in vitro μελέτη στον άνθρωπο και στον κριό και η μείωση αυτή ήταν δοσοεξαρτώμενη (Taitzoglou και συν. 2001).

Σε ό,τι αφορά στις ορμονικές παρεμβάσεις, η χορήγηση PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin) σε κριούς προκάλεσε αύξηση των επιπέδων της τεστοστερόνης στο αίμα, αλλά και της δραστηριότητας των ενεργοποιών του πλασμινογόνου στο πλάσμα του σπέρματος, 4-7 ημέρες μετά την έγχυσή της. Μία ανάλογη αύξηση της δραστηριότητας των ενεργοποιών του πλασμινογόνου (PAA) στα σπερματοζωάρια του κριού, 32-46 ημέρες μετά την έγχυση της γοναδοτροπίνης και την αύξηση της τεστοστερόνης έδειξε τη θετική επίδραση της ορμόνης στη σύνθεση των πρωτεϊνασών κατά τη σπερματογένεση, με τους αδρανοποιούς των ενεργοποιών του πλασμινογόνου (αντι-tPA δράση) να αυξάνονται με μικρή χρονική υστέρηση, πιθανώς για την ισόρροπη ρύθμιση του ενζυμικού συστήματος στη διαδικασία της γονιμοποίησης (Rekkas και συν. 1991). Ανάλογα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν στα σπερματοζωάρια μετά από την τοποθέτηση υποδόριων εμφυτευμάτων μελατονίνης σε κριούς, η οποία προκάλεσε σημαντική αύξηση της δραστηριότητας των ενεργοποιών του πλασμινογόνου, τόσο κατά την οιστρική (φθινόπωρο), όσο και κατά την άνοιστρη περίοδο (άνοιξη) των προβάτων (Tsantarliotou και συν. 2008b). Η αύξηση αυτή βρίσκεται σε θετική σχέση με τη μελατονίνη μέσω της αύξησης της τιμής της τεστοστερόνης στο αίμα, αλλά και ανεξάρτητα από αυτή. Άλλωστε, τα εμφυτεύματα μελατονίνης φαίνεται ότι λειτουργούν ευεργετικά και σε άλλες παραμέτρους της αναπαραγωγικής λειτουργίας όπως είναι η κινητικότητα του σπέρματος, η ικανότητα διάτρησης της διαφανούς ζώνης του ωαρίου από το σπερματοζωάριο και το ποσοστό γονιμοποίησης (Casao και συν. 2010). Τέλος, οι Cabler και συν. (2010) απέδειξαν ότι σε παχύσαρκους άνδρες τα λιποκύτταρα εκκρίνουν διάφορες κυτταροκίνες, μεταξύ των οποίων και το PAI-1, ο οποίος συσχετίζεται με την τοξική δράση των ενεργών ριζών οξυγόνου και την αγονιμότητα.

Ενεργοποίηση των σπερματοζωαρίων και αντίδραση ακροσώματος-Γονιμοποίηση (Capacitation, acrosome reaction, fertilization)

Τα σπερματοζωάρια αμέσως μετά την απελευθέρωσή τους από το σπερματικό επιθήλιο δεν είναι ικανά για γονιμοποίηση. Οι μορφολογικές και βιοχημικές μεταβολές που υφίστανται από τη στιγμή που εγκαταλείπουν τα κύτταρα του Sertoli μέχρι την αλληλεπίδρασή τους με το ωάριο, οπότε είναι πλήρως λειτουργικά και ικανά για γονιμοποίηση, αποτελούν τη διαδικασία της ωρίμανσης και ενεργοποίησής τους. Κατά μήκος αυτής της πορείας από τον όρχι μέχρι τον ωαγωγό, τα σπερματοζωάρια αιωρούνται μέσα σε εκκρίσεις της γεννητικής οδού τόσο του αρσενικού, όσο και του θηλυκού. Η χημική και φυσική σύσταση του μέσου αλλάζει προοδευτικά ενώ τα σπερματοζωάρια αλλάζουν, επίσης, δομικά και βιοχημικά. Αρκετές πρωτεΐνες από το περιβάλλον του όρχεως και της επιδιδυμίδας έχει αποδειχθεί ότι συνδέονται με συγκεκριμένες περιοχές της επιφάνειας των σπερματοζωαρίων, οι οποίες σχετίζονται με την ωρίμανσή τους. Καθώς τα σπερματοζωάρια προωθούνται από την κεφαλή προς την ουρά της επιδιδυμίδας στον πυρήνα τους παρατηρείται συμπύκνωση της χρωματίνης και προοδευτική ανάπτυξη της κινητικότητας και της ικανότητάς τους για διείσδυση στο ωοκύτταρο. Οι ενεργοποιοί του πλασμινογόνου φαίνεται να συμμετέχουν στη διαδικασία αυτή καθώς τα επιθηλιακά κύτταρα των επιδιδυμίδων του επίμυος και του πιθήκου Macacus συνθέτουν mRNA των tPA, uPA, και PAI-1. Μάλιστα, στους ενήλικες πιθήκους το mRNA των παραγόντων αυτών εκφράζεται περισσότερο στην κεφαλή και το σώμα των επιδιδυμίδων σε σχέση με την ουρά (Zhang και συν. 1997, Zhou και συν. 1997). Πιο πρόσφατες μελέτες σε επίμυ, επίσης, έδειξαν ότι η δραστηριότητα των ενεργοποιών του πλασμινογόνου είναι μεγαλύτερη στην κεφαλή και το σώμα σε σχέση με την ουρά της επιδιδυμίδας (Tsantarliotou και συν. 2006).

Η τελική φάση της ωρίμανσης του σπερματοζωαρίου ονομάζεται ενεργοποίηση (sperm capacitation), συμβαίνει στο γεννητικό σωλήνα του θηλυκού και λειτουργεί ως ένα προπαρασκευαστικό στάδιο για την αντίδραση του ακροσώματος (acrosome reaction). Η ενεργοποίηση δεν περιλαμβάνει μορφολογικές

αλλαγές και συνοδεύεται από την υπερενεργοποίηση (hyperactivation), η οποία χαρακτηρίζεται από έντονη, μη γραμμική κίνηση του σπερματοζωαρίου (Yanagimachi 1994) στην οποία οι πρωτεολυτικές εξεργασίες παίζουν σημαντικό ρόλο (Talbot και Franklin 1978, Zheng και συν. 2001).

Υπάρχουν αρκετές μελέτες οι οποίες αποδεικνύουν ότι ο uPA στα σπερματοζωάρια διαφόρων ειδών συμμετέχει στις διαδικασίες της ενεργοποίησης και της κινητικότητάς τους (Zheng και συν. 2001). Τα σπερματοζωάρια του μυός (Huarte και συν. 1987) και του ανθρώπου (Liu και συν. 1996) εκφράζουν το mRNA του υποδοχέα του uPA. Συνεπώς ο uPA που βρίσκεται στο πλάσμα του σπέρματος και στον αυλό της επιδιδυμίδας συμμετέχει στη διαδικασία της ωρίμανσης και της γονιμοποίησης (Liu και συν. 1995). Η δραστηριότητα του uPA σε σπερματοζωάρια του εκσπερματίσματος είναι μεγαλύτερη από την αντίστοιχη των σπερματοζωαρίων που ελήφθησαν απευθείας από τους σπερματικούς πόρους. Αυτό υποδεικνύει ότι ο uPA, ο οποίος εκκρίνεται και προσδένεται στον υποδοχέα του κατά την εκσπερμάτιση, διαδραματίζει τον πρωτεολυτικό του ρόλο σε φυσιολογικά γεγονότα μετά την εκσπερμάτιση, όπως αυτά που προαναφέρθηκαν (Huarte και συν. 1987, Zheng και συν. 2001). Επιπρόσθετα, ο uPA αυξάνει το δυναμικό της μεμβράνης των μιτοχονδρίων και το διατηρεί υψηλό για ορισμένο χρονικό διάστημα, παρέχοντας με αυτόν τον τρόπο τα κατάλληλα ενεργειακά αποθέματα στα σπερματοζωάρια για την υπερενεργοποίηση (Ding και συν. 2007).

Κατά την αντίδραση του ακροσώματος του σπερματοζωαρίου παρατηρείται διόγκωση του περιεχομένου του ακροσώματος, το οποίο είναι πλούσιο σε πρωτεολυτικά ένζυμα μεταξύ των οποίων και οι ενεργοποιοί του πλασμινογόνου και το ανενεργό ένζυμο προακροσίνη. Η εξωτερική ακροσωμιακή μεμβράνη ενώνεται σε διάφορα σημεία με την κυτταρική μεμβράνη δημιουργώντας σωληνίσκους, από τους οποίους εξέρχεται το περιεχόμενο του ακροσώματος υπό μορφή κυστιδίων. Με τη διαδικασία αυτή το σπερματοζωάριο απογυμνώνεται, καθώς καλύπτεται μόνο από την εσωτερική ακροσωμιακή μεμβράνη. Η αντίδραση του ακροσώματος ξεκινάει πριν από την επαφή με τη διαφανή ζώνη του ωοκυττάρου ή σε ελάχιστες περιπτώσεις ταυτόχρονα με την επαφή μαζί της και η τελευταία περίπτωση υποστηρίζεται από το γεγονός ότι τα σπερματοζωάρια των μυών έχουν ακέραιο ακρόσωμα πριν από την επαφή τους με τη διαφανή ζώνη και ότι μία γλυκοπρωτεΐνη της διαφανούς ζώνης προάγει την αντίδραση ακροσώματος (Jin και συν. 2011). Όπως προαναφέρθηκε, οι ενεργοποιοί του πλασμινογόνου εντοπίζονται στην εξωτερική ακροσωμιακή και στην κυτταρική μεμβράνη. Κατά την αντίδραση του ακροσώματος απελευθερώνονται στο περιβάλλον του ωοκυττάρου, όπου είναι δυνατή η ανίχνευση της πλασμίνης (Taitzoglou και συν. 1996). Η παρουσία της πλασμίνης βελτιώνει την κινητικότητα του σπέρματος του ταύρου σε in vitro συνθήκες (Taitzoglou και συν. 2004) και κατά πάσα πιθανότητα η δράση αυτή ασκείται άμεσα στα σπερματοζωάρια, αφού το ιξώδες του πλάσματος του σπέρματος δεν επηρεάζεται (Smokovitis και συν. 1987).

Η γονιμοποίηση πραγματοποιείται στη λήκυθο του ωαγωγού. Στην αγελάδα, τόσο ο ωαγωγός όσο και το περιεχόμενο υγρό του εμφανίζουν υψηλή δραστηριότητα του uPA λίγο πριν από την ωοθυλακιορρηξία, ενώ μετά την ολοκλήρωσή της η ενζυμική δραστηριότητα είναι 3 φορές μικρότερη (Gabler και συν. 2001). Αντίθετα η έκφραση του PAI-1 παραμένει σταθερή στη διάρκεια του ωοθηκικού κύκλου.

Στο υγρό του ωαγωγού, στο χοίρο, έχουν ανιχνευτεί και οι δυο τύποι των ενεργοποιών του πλασμινογόνου και μάλιστα, η δραστηριότητά τους ήταν σημαντικά μεγαλύτερη μετά την ωοθυλακιορρηξία από ό,τι πριν από αυτήν (Roldan-Olarte και συν. 2005). Μελέτες in vitro απέδειξαν ότι ο uPA προάγει την αντίδραση του ακροσώματος και την ικανότητα του σπερματοζωαρίου για γονιμοποίηση (Zheng και συν. 2001). Επιπρόσθετα, η συγκέντρωση του mRNA του uPA που ανιχνεύθηκε στον ωαγωγό της συός ακολουθεί τη φθίνουσα πορεία ισθμός>λήκυθος> κώδωνας, μοτίβο το οποίο διατηρείται καθόλη τη διάρκεια του ωοθηκικού κύκλου· παρόλα αυτά, η μεγαλύτερη δραστηριότητα του uPA καταγράφεται στη λήκυθο, πιθανόν εξαιτίας της παρουσίας μεγαλύτερης αναστολής (PAI-1) στον ισθμό του ωαγωγού (Tsantarliotou και συν. 2005). Άλλωστε οι Kouba και συν. (2000) παρατήρησαν ότι το mRNA του PAI-1 ήταν σημαντικά περισσότερο στον ισθμό του ωαγωγού του χοίρου σε σχέση με άλλα τμήματά του, ανεξάρτητα από την ημέρα του ωοθηκικού κύκλου, και ίσως αυτό να εξηγεί το γεγονός ότι τα σπερματοζωάρια διατηρούνται σε ακινησία πριν από τη γονιμοποίηση.

Ο Meizel (1985) υποστήριξε ότι η προσθήκη διαφόρων υδρολυτικών ενζύμων σε υποστρώματα της in vitro γονιμοποίησης, επηρεάζουν την ενεργοποίηση

ή/και την αντίδραση του ακροσώματος. Τα ένζυμα του ίδιου του ακροσώματος προάγουν σημαντικά την αντίδραση του ακροσώματος. Κατά τη χρονική στιγμή της αλληλεπίδρασης σπερματοζωαρίου-ωοκυττάρου, οι ενεργοποιοί του πλασμινογόνου απελευθερώνονται (Taitzoglou και συν. 1996) και επιδρούν στη διαφανή ζώνη κατά τη συγχώνευση των γαμετών (Infante και συν. 2001), ενώ η ίδια η πλασμίνη προκαλεί την αντίδραση του ακροσώματος σε ήδη ενεργοποιημένα σπερματοζωάρια ταύρου (Taitzoglou και συν. 2003). Οι Sa και συν. (2006) διαπίστωσαν ότι και στο χοίρο η προσθήκη πλασμίνης σε in vitro υποστρώματα καλλιέργειας αύξησε τα ποσοστά των σπερματοζωαρίων που υπέστησαν αντίδραση του ακροσώματος, καθώς και τα ποσοστά σύνδεσης και διείσδυσης στη διαφανή ζώνη, χωρίς, όμως, να επηρεαστούν η ζωτικότητα του σπέρματος και το ποσοστό πολυσπερμίας.

Η πολυσπερμία (polyspermy) αποφεύγεται με την αντίδραση της διαφανούς ζώνης αμέσως μετά τη γονιμοποίηση. Η πλασμίνη σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις είναι ικανή να αλλάξει την πολυπεπτιδική δομή και την ακεραιότητα της διαφανούς ζώνης στα βοοειδή (Cannon και Mennino 1998). Ο tPA απελευθερώνεται κατά την αντίδραση της διαφανούς ζώνης σε ωοκύτταρα μυός και επίμυος και προκαλεί τη σκλήρυνσή της (Zhang και συν. 1992). Οι Huarte και συν. (1993) διαπίστωσαν ότι η προσθήκη πλασμινογόνου στο υπόστρωμα της in vitro γονιμοποίησης αύξησε τον αριθμό των σπερματοζωαρίων που συνδέθηκαν με τη διαφανή ζώνη ωοκυττάρων μυών. Επιπλέον, η προσθήκη διαφόρων αναστολέων των ενεργοποιών του πλασμινογόνου και της πλασμίνης μείωσε δραματικά τα ποσοστά σύνδεσης των σπερματοζωαρίων με τη διαφανή ζώνη και συνεπώς τα ποσοστά γονιμοποίησης (Sa και συν. 2006). Στο πρόβατο, η προσθήκη πλασμίνης σε υποστρώματα in vitro γονιμοποίησης ωοκυττάρων, προκάλεσε την ενεργοποίηση του ενζύμου φωσφολιπάση A2 στην κυτταρική μεμβράνη, η δράση του οποίου εξαρτάται από το ασβέστιο και προκαλεί αντίδραση της διαφανούς ζώνης (Towhidi και συν. 2009). Άλλωστε οι Nandi και συν. (2003) απέδωσαν την αύξηση του ποσοστού της in vitro ωρίμανσης ωοκυττάρων βουβαλιών, όταν αυτά καλλιεργήθηκαν σε υπόστρωμα εμπλουτισμένο με τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (EGF), στην αυξημένη σύνθεση uPA και tPA από τα κοκκώδη κύτταρα. Στην αγελάδα, τέλος, η προσθήκη uPA, tPA ή πλασμίνης στα υποστρώματα της in vitro παραγωγής εμβρύων προήγαγε το ποσοστό ωρίμανσης των ωοκυττάρων χωρίς όμως να επηρεάσει το ποσοστό των διχοτομήσεων (cleavage rate) ή το ρυθμό ανάπτυξης των εμβρύων (Papanikolaou και συν. 2008).

ΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΘΗΛΥΚΟΥ

Ωοθυλακιορρηξία (Ovulation)

Το ωοθυλάκιο είναι τμήμα του ωοθηκικού ιστού όπου λαμβάνει χώρα η ωρίμανση του ωοκυττάρου, το οποίο με την ωοθυλακιορρηξία απελευθερώνεται στον ωαγωγό για γονιμοποίηση. Κατά την ωοθυλακιορρηξία παρατηρείται σημαντική αύξηση της δραστηριότητας των ενεργοποιών του πλασμινογόνου στο σημείο ρήξης του τοιχώματος του ωοθυλακίου, το οποίο καλείται στίγμα. Στην διαδικασία αυτή σημαντικό ρόλο φαίνεται να διαδραματίζει η LH (Smokovitis και συν. 1989). Η χορήγηση GnRH προάγει την ανάπτυξη των ώριμων ή γρααφιανών ωοθυλακίων και αυξάνει την έκκριση των ενεργοποιών του πλασμινογόνου στα τοιχώματά τους όπου προάγεται η σύνθεση της πλασμίνης (Kokolis και συν. 1987, Ohnishi και συν. 2005).

Η έκφραση και η έκκριση των ενεργοποιών του πλασμινογόνου στην ωοθήκη των τρωκτικών, του χοίρου και του προβάτου προκαλούνται από τις γοναδοτρόπες ορμόνες LH και FSH ακριβώς πριν από την ωοθυλακιορρηξία (Smokovitis και συν. 1988, Murdoch 1998). Οι υποδοχείς των ορμονών αυτών έχουν εντοπιστεί στα επιθηλιακά κύτταρα της ωοθήκης (Dano και συν. 1985). Στο πρόβατο, η επώαση γρααφιανών ωοθυλακίων με LH προκάλεσε την έκκριση των ενεργοποιών του πλασμινογόνου από τα επιθηλιακά κύτταρα της ωοθήκης (Murdoch και συν. 1999). Η χορήγηση στα ωοθυλάκια α2 –αντιπλασμίνης ή αντιορών LH μείωσε το ποσοστό ωοθυλακιορρηξίας σε θηλυκούς μυς χωρίς να την αναστείλει πλήρως (Tsafriri και συν. 1989) υποδεικνύοντας με τον τρόπο αυτό και άλλους μηχανισμούς ικανούς να υποκαταστήσουν το ρόλο της πλασμίνης στην ωοθυλακιορρηξία, όπως είναι ο μηχανισμός της απόπτωσης μέσω της δράσης του νεοπλασματικού νεκρωτικού παράγοντα α (TNFα) (Murdoch 1998, Ny και συν. 1999, Ohnishi και συν. 2005). Ανάλογα αποτελέσματα προέκυψαν και από μελέτες σε ωοθήκες επιμύων στις οποίες έγιναν εγχύσεις δεξαμεθαζόνης. Η τελευταία μείωσε τη δραστηριότητα των προσταγλανδινών E2 και F2α και των ενεργοποιών του πλασμινογόνου καθώς και την έκκριση της οιστραδιόλης, αλλά δεν επηρέασε των αριθμό των ωοθυλακιορρηξιών αποδεικνύοντας ότι η αναστολή της έκκρισης αυτών των παραγόντων δεν ήταν ικανή να αποτρέψει την ωοθυλακιορρηξία ή/και

ότι η δεξαμεθαζόνη διεγείρει και άλλους μηχανισμούς προκειμένου να καταστεί εφικτή η ωοθυλακιορρηξία (Mikuni και συν. 2009).

Σε αντίθεση με τα γρααφιανά ωοθυλάκια, τα πρωτογενή ωοθυλάκια τρωκτικών δεν περιέχουν tPA. Η δραστηριότητα των ενεργοποιών του πλασμινογόνου έχει βρεθεί ότι αυξάνεται στο σύμπλεγμα ωοκύτταρο-κοκκώδη κύτταρα (Cumulus-oocyte complexes-COC's) πριν από την ωοθυλακιορρηξία (Liu και συν. 1995). Κατά τη διάρκεια της in vitro ωρίμανσης ο tPA είναι ανιχνεύσιμος 5 ώρες μετά τη λύση του βλαστικού κυστιδίου (Germinal Vesicle Breakdown), γεγονός που υπαγορεύει ότι το mRNA του tPA είναι παρόν στα πρωτογενή ωοκύτταρα και ότι η μειωτική ωρίμανση προάγει τη μετάφρασή του (Strickland και συν. 1988). Η παραγωγή του tPA φαίνεται να σταματά κατά τη γονιμοποίηση (Huarte και συν. 1985). Στα φλοιϊκά κοκκία των ωοκυττάρων της αγελάδας εμφανίζεται, επίσης, δραστηριότητα των ενεργοποιών του πλασμινογόνου η οποία φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αντίδραση της διαφανούς ζώνης και στην αποτροπή της πολυσπερμίας μετά τη γονιμοποίηση (Rekkas και συν. 2002). Στο πρόβατο, πριν από την ωοθυλακιορρηξία, η συγκέντρωση του πλασμινογόνου στο ωοθυλακικό υγρό είναι υψηλή και σχεδόν ίση με αυτήν του αίματος την αντίστοιχη περίοδο (Towhidi και συν. 2009). Συνεπώς, η ταυτόχρονη παρουσία του tPA στο ωοθυλακικό υγρό συνδέεται και με τη ρευστοποίηση του υγρού κατά τη διάρκεια της ωοθυλακιορρηξίας σε αντίθεση με το υψηλό ιξώδες που παρατηρείται κατά τη διάρκεια των υπόλοιπων φάσεων του ωοθηκικού κύκλου. Κατ' αυτόν τον τρόπο διευκολύνεται η απελευθέρωση του ωοφόρου δίσκου (cumulus oophorus), ενώ προλαμβάνεται και η πήξη του αίματος κατά τη ρήξη του ωοθυλακίου, η οποία οφείλεται σε αιμορραγία των αγγείων της έσω θήκης (Ebisch και συν. 2008).

Η ωοθήκη είναι ένας ιστός με πλούσια αιμάτωση. Τα ωοθυλάκια παρουσιάζουν ταχεία ανάπτυξη και υφίστανται ωοθυλακιορρηξία ή παραμένουν ατρητικά, ενώ κατά την ωχρινική φάση του ωοθηκικού κύκλου δημιουργείται το ωχρό σωμάτιο, το οποίο ύστερα από ορισμένες ημέρες παλινδρομεί. Οι Karakji και Tsang (1995) απέδειξαν το ρυθμιστικό ρόλο της ιντερλευκίνης 1β (IL-1β) στην εξέλιξη του ωοθυλακίου σε ατρητικό ή όχι. Η IL-1β, εκτός των άλλων, ρυθμίζει τη δραστηριότητα του uPA και προάγει την έκκριση PAI-1. Οι μορφολογικές και δομικές αλλαγές που λαμβάνουν χώρα στην ωοθήκη απαιτούν νέα αγγείωση. Κατά τη διάρκεια της ωοθυλακιορρηξίας και της πρώιμης ωχρινικής φάσης λαμβάνουν χώρα δραματικές αλλαγές στο δίκτυο των τριχοειδών της βασικής μεμβράνης. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν ενεργοποιούς του πλασμινογόνου, μεταλλοπρωτεϊνάσες και τους αναστολείς τους, ανταποκρινόμενα στους αγγειογόνους παράγοντες, οι οποίοι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αποδόμηση της βασικής μεμβράνης και στη διείσδυση σε αυτήν των σχηματιζόμενων αγγείων (Liu και συν. 1995, Li και συν. 1997).

Ο PAI-1 εκφράζεται στην ωοθήκη κατά τη διάρκεια της προ-ωοθυλακιορρηκτικής περιόδου προκειμένου να αποτρέψει την πρώιμη ρήξη του τοιχώματος του ωοθυλακίου, ενώ η έκφρασή του μειώνεται κατά την ωοθυλακιορρηξία (Li και συν. 1997). Μάλιστα, η έκφραση του PAI-1 είναι μεγαλύτερη σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών σε σύγκριση με τις φυσιολογικές, γεγονός που οδηγεί σε αναστολή της ωοθυλακιορρηξίας, ενώ συσχετίζεται και με αυξημένες πιθανότητες θρομβοεμβολικών επεισοδίων, λόγω της μειωμένης δραστηριότητας του ινωδολυτικού συστήματος στο αίμα (Atiomo και συν. 1998).

Μήτρα (Uterus)

Και οι δύο τύποι των ενεργοποιών του πλασμινογόνου είναι παρόντες στο ενδομήτριο της αγελάδας (Moraitis και συν. 2004, Bargouli και συν. 2007), του επίμυος (Ploumis 1992) και του ανθρώπου (Koh και συν. 1992) και απελευθερώνονται τόσο από το βασικό υμένα όσο και από τα επιθηλιακά κύτταρα των ενδομητριαίων αδένων. Αρκετά δεδομένα αποδεικνύουν ότι οι μεταλλοπρωτεϊνάσες της θεμελιακής ουσίας, κυρίως η κολλαγενάση και το σύστημα των ενεργοποιών του πλασμινογόνου/πλασμίνης, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αποδόμηση του κολλαγόνου σε συνθήκες ταχείας αναδόμησης, όπως η φλεγμονή και η παλινδρόμηση της μήτρας (Everts και συν. 1996). Στην ενδομητρίτιδα της αγελάδας, η δραστηριότητα των ενεργοποιών του πλασμινογόνου αυξάνεται ανάλογα με το βαθμό της φλεγμονής και τροποποιείται-σύμφωνα με τις ιστολογικές μεταβολές-από την ενδομητρική έγχυση πενικιλλίνης G. Συνεπώς, αυτοί οι ενζυμικοί παράγοντες συμμετέχουν στην εξέλιξη της ενδομητρίτιδας και αποτελούν εν δυνάμει δείκτες για την πρόγνωση και τη θεραπεία της (Moraitis και συν. 2004). Ανάλογες παρατηρήσεις πραγματοποιήθηκαν και σε περιστατικά ενδομητρίτιδας στη γυναίκα. Στα

πλαίσια της διαδικασίας ανάπλασης των ιστών, παράγοντες φλεγμονής όπως η IL-1β και ο TNFα προάγουν την έκκριση ενεργοποιών του πλασμινογόνου και των δύο τύπων με σκοπό την λύση του ινώδους της φλεγμονής (Tanikawa και συν. 2009). Η παρουσία του PAI-1 αντισταθμίζει τη διαδικασία αποδόμησης. Πράγματι, σε διαταραχές της ινωδόλυσης, όπου τα επίπεδα του PAI-1 δεν είναι τα ενδεικνυόμενα, εμφανίζονται περιστατικά θρόμβωσης και αυξημένης νοσηρότητας λόγω της ανεπαρκούς απομάκρυνσης του ινώδους (Jabbour και συν. 2009). Σημαντική συσχέτιση παρατηρήθηκε, επίσης, μεταξύ της δραστηριότητας των ενεργοποιών του πλασμινογόνου και της διαδικασίας αναδόμησης των ιστών που συμβαίνει κατά την παλινδρόμηση της μήτρας μετά τον τοκετό στο μυ (Shimada και συν. 1985), ενώ και στο μαστό φαίνεται ότι οι PAs παίζουν ρόλο στην ευρεία αναδόμηση και παλινδρόμηση του μαστού μετά τη γαλουχία (Takada και συν. 1989).

Ανάπτυξη του εμβρύου και εμφύτευση του στο ενδομήτριο (Early embryo development and implantation)

Αμέσως μετά τη γονιμοποίηση, το ζυγωτό προωθείται από τη λήκυθο του ωαγωγού προς τη μήτρα καθώς υφίσταται διαδοχικές μιτωτικές διαιρέσεις. Από μελέτες σε έμβρυα μυός διαπιστώθηκε ότι η δραστηριότητα των ενεργοποιών του πλασμινογόνου είναι μειωμένη στο στάδιο των 2 κυττάρων και αυξάνεται μετά το στάδιο των 8 κυττάρων. Αυξημένη δραστηριότητα των PAs διαπιστώθηκε και στο στάδιο της βλαστικής κύστης που αποδίδεται στον uPA (Berg και Menino 1992), αφού διαπιστώθηκε αυξημένη έκφραση του mRNA αυτού. Η έκφραση αυτή αποδίδεται στην ενεργοποίηση του γονιδιώματος του εμβρύου και συμβάλλει τόσο στην εμφύτευση του εμβρύου, όσο και στην περαιτέρω ανάπτυξή του (Zhang και συν. 1994, Leoni και συν. 2000). Ο tPA, ο οποίος ανιχνεύτηκε σε έμβρυα 4 κυττάρων και σε μορίδια, προφανώς προέρχεται από τον ωαγωγό και συνδέεται με αυτά μέσω ειδικού υποδοχέα tPA που υπάρχει στην επιφάνειά τους. Με αυτόν τον τρόπο διατηρείται η ρευστότητα στο περιβάλλον του εμβρύου και διευκολύνεται η μετανάστευσή του διαμέσου του ωαγωγού (Carrol και συν. 1993).

Η επαρκής προετοιμασία του ενδομητρίου διασφαλίζεται από τις κυκλικές εκκρίσεις της προγεστερόνης και της 17β-οιστραδιόλης. Στον άνθρωπο, οι εκκρίσεις αυτές είναι οι μέγιστες μεταξύ 5ης-7ης ημέρας από την ωοθυλακιορρηξία, ενώ τα κύτταρα του φθαρτού υμένα διαφοροποιούνται την 9η-10η ημέρα. Πριν, αλλά και κατά τη διάρκεια της περιόδου εμφύτευσης του εμβρύου, τα οιστρογόνα ή/και η προγεστερόνη ρυθμίζουν την έκκριση μίας σειράς παραγόντων ανάπτυξης και κυτταροκινών από τη μήτρα (Duc-Goiran και συν. 1999). Ο uPA, ο υποδοχέας του, καθώς και ο PAI-1 θεωρείται ότι συμμετέχουν στον έλεγχο της πρωτεϊνόλυσης και της αναδόμησης των ιστών της μήτρας κατά την εμφύτευση της τροφοβλάστης, στα ζώα και στον άνθρωπο (Fazleabas και συν. 1983). Οι ενεργοποιοί του πλασμινογόνου διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της επαφής και της προσκόλλησης του εμβρύου στο τοίχωμα της μήτρας κατά την εμφύτευση (Shimada και συν. 1989), καθώς απελευθερώνονται από τα κύτταρα της τροφοβλάστης κατά τη φάση της ανάπτυξης-διείσδυσης. Η τροφοβλάστη, στον άνθρωπο, εκφράζει τόσο τον uPA όσο και τον υποδοχέα του, σε ορισμένα τμήματά της. Στα τμήματα αυτά, και ιδιαίτερα στα κύτταρα της διεισδυτικής τροφοβλάστης και της συγκυτιοτροφοβλάστης, που αποτελούν τις περιοχές προσκόλλησης στο τοίχωμα της μήτρας, εκφράζονται επίσης και οι αδρανοποιοί των ενεργοποιών του πλασμινογόνου, PAI-1 και PAI-2. Η απομάκρυνση του μη ενεργού συμπλόκου uPA/PAI-1 πραγματοποιείται με τη βοήθεια μιας λιποπρωτεΐνης, χαμηλού μοριακού βάρους, η οποία απομακρύνει το σύμπλοκο από την επιφάνεια της τροφοβλάστης και επιτρέπει την περαιτέρω συνέχιση της εμφύτευσης (Duc-Goiran και συν. 1999). Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε έμβρυα μυός, in vitro, απέδειξαν ότι η παραγωγή του uPA ακολουθεί μια προδιαγεγραμμένη πορεία ως προς τον τόπο και τον χρόνο παραγωγής από την τροφοβλάστη και αυτό βρίσκεται σε θετική σχέση με την αναγκαία πρωτεϊνόλυση για την εμφύτευση του εμβρύου (Sappino και συν. 1989). Πιο συγκεκριμένα, η παραγωγή του uPA από τις βλαστικές κύστεις in vitro ξεκινά περίπου την 5η ημέρα της in vitro καλλιέργειας, η οποία συμπίπτει χρονικά με την έναρξη της επαφής του εμβρύου με το τοίχωμα της μήτρας in vivo (Martinez-Hernadez και συν. 2011). Ανάλογα συνδέεται και στο πρόβατο η έκκριση των ενζυμικών παραγόντων από το έμβρυο με την εμφύτευσή του στη μήτρα (Menino και Williams 1994).

Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης η δραστηριότητα των ενεργοποιών του πλασμινογόνου ελέγχεται τόσο από τον PAI-1, όσο και από τον PAI-2. Ο PAI-1 απελευθερώνεται από τα αιμοπετάλια, από κύτταρα του πλακούντα, του ενδομητρίου και του ήπατος στην κυκλοφορία του αίματος. Ο PAI-2 απελευθερώνεται από τα κύτταρα της συγκυτιοτροφοβλάστης και σε

μικρότερο ποσοστό από τα μακροφάγα. Σε αντίθεση με τον PAI-1, ο οποίος ανιχνεύεται και σε μη εγκυμονούσες γυναίκες, ο PAI-2 είναι παρών μόνο κατά την κυοφορία, σε συγκεντρώσεις πολύ υψηλότερες από αυτές του PAI-1 και γι αυτό θεωρείται ως ο πρωταρχικός παράγοντας ελέγχου της κυκλοφορίας του αίματος μεταξύ της μήτρας και του πλακούντα, ειδικά κατά τη διάρκεια της αποκόλλησης του πλακούντα κατά τον τοκετό (Houlihan και συν. 1996). Σύμφωνα με κάποιους ερευνητές, η πολύ χαμηλή συγκέντρωση του PAI-2 στο πλάσμα του αίματος εγκύων γυναικών ευθύνεται για την εμφάνιση προεκλαμψίας με εμβολή στον πλακούντα (Estelles και συν. 1989). Όμως, σημαντικό ρόλο φαίνεται ότι έχει και ο PAI-1 στην εμφύτευση του εμβρύου, αφού σε διαταραχές της σύνθεσής του παρατηρούνται αφενός εξωμήτριες κυοφορίες στον ωαγωγό ή εναπόθεση ινικής στα αγγεία, όπως στην υδατιδώδη μύλη κύηση, φαινόμενα που υποδεικνύουν ανεξέλεγκτη εμφύτευση (Floridon και συν. 2000). Συνεπώς και οι δύο αδρανοποιοί των ενεργοποιών του πλασμινογόνου PAI-1 και PAI-2 είναι απαραίτητοι για την ομαλή έκβαση της κυοφορίας, ενώ ο PAI-2 προτείνεται ως δείκτης της εύρυθμης λειτουργίας του πλακούντα (Kruithof και Bachmann 1986, Shimada και συν. 1989).

Τέλος, οι Tao και συν. (1995) μελέτησαν τον πιθανό ρόλο της ανθρώπινης χοριακής γοναδοτρόπου ορμόνης (human Chorionic Gonadotropin, hCG), εκτός από τη διατήρηση του ωχρού σωματίου της εγκυμοσύνης, στη μητρική αναγνώριση της κυοφορίας και στην εμφύτευση του εμβρύου, στον άνθρωπο. Διαπιστώθηκαν υποδοχείς hCG στο ενδοθήλιο και γύρω από τα αγγεία στις ενδιάμεσες στοιβάδες της τροφοβλάστης, κατά τα πρώιμα στάδια της εγκυμοσύνης, γεγονός που υποδεικνύει τη συμμετοχή της ορμόνης στη διαδικασία της εμφύτευσης και στη μητρική αναγνώριση της κυοφορίας. Μάλιστα, η ολοένα αυξανόμενη hCG στο αίμα ρυθμίζει την έκκριση του uPA και των PAI-1 και PAI-2 και εξασφαλίζει τη διάρκεια της διάβρωσης του ενδομητρίου και των υποκείμενων στοιβάδων για την εμφύτευση του εμβρύου. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον προέκυψε για το συνδεδεμένο με την ηπαρίνη επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (Heparin Binding Epidermal Growth Factor, HBEGF), ο οποίος εκφράζεται από εκείνα τα επιθηλιακά κύτταρα της μήτρας τα οποία έρχονται σε επαφή με τη βλαστική κύστη την 5η ημέρα της εγκυμοσύνης και φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εμφύτευση. Γενικότερα, η έκφραση του HBEGF θεωρείται θεωρείται ως η πρωταρχική ανταπόκριση του επιθηλίου της μήτρας στα σήματα που εκπέμπει η τροφοβλάστη (Martinez-Hernadez και συν. 2011). Τέλος, περισσότερη έρευνα απαιτείται προκειμένου να αποσαφηνιστεί ο μηχανισμός με τον οποίο οι ενεργοποιοί του πλασμινογόνου και η πλασμίνη συμμετέχουν στην επιτυχή αναγνώριση της κυοφορίας.

Συμπερασματικά, τα μέχρι σήμερα ευρήματα δείχνουν ότι η τοπική και απόλυτα ελεγχόμενη πρωτεϊνόλυση που προκαλείται από την ισορροπημένη έκφραση των ενεργοποιών του πλασμινογόνου και των αδρανοποιών τους, μέσω αυτοκρινών και παρακρινών μηχανισμών, παίζει σημαντικό ρόλο στις φυσιολογικές διεργασίες της παραγωγής και ωρίμανσης των γαμετών και στα δύο φύλα, καθώς και στη γονιμοποίηση και στην κυοφορία. Συνεπώς θα ήταν ενδιαφέρουσα η ανεύρεση μεθόδων ελέγχου αυτής της πρωτεολυτικής δραστηριότητας, με στόχο διεργασίες που σχετίζονται με την αναπαραγωγή.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Akenami FOT, Siren V, Wessman M, Koskiniemi M, Va-heri A (1999) Tissue plasminogen activator gene expression in multiple sclerosis brain tissue. J Neurol Sci 165, 71-76

Alfano S, Franco P, Vocca I, Gambi N, Pisa V, Mancini A, Caputi M, Carriero MV, Iaccarino I, Stoppelli MP (2005) The urokinase plasminogen activator and its receptor: role in cell growth and apoptosis. Thromb Haemost 83, 205-211

Andreasen PA, Nielsen LS, Kristensen P, Grondahl–Hansen J, Skriver L, Dano K (1986) Plasminogen activator inhibitor from human fibrosarcoma cells binds urokinase-type plasminogen acrivator, but not its proenzyme. J Biol Chem 261, 7644-7651

Atiomo WU, Bates SA, Condon JE, West JH, Prentice AG (1998) The plasminogen activator system in women with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 69, 236-241

Bargouli G, Tsantarliotou M, Brozos C, Kokolis N, Boscos C (2007) Effect of norgestomet treatment on plasminogen activator activity in the cervical mucus and the endometrium in dairy cows. J Vet Med A 54, 1-5

Blasi F, Vassali JD, Dano K (1987) Urokinase-Type Plasminogen Actovator: Proenzyme, Receptor, and Inhibitors. J Cell Biol 104, 801-804

Berg DA, Menino AR(1992) Bovine embryos produce a urokinase-type plasminogen activator. Mol Reprod Dev 31, 14-19

Cabler S, Agarwal A, Flint M, duPlessis SS (2010) Obesity: modern man's fertility nemesis. Asian J Androl 12, 480-489

Cannon MJ, Menino AR (1998) Changes in the bovine zona pellucida induced by plasmin or embryonic plasminogen activator. Mol Reprod Dev 51, 330-338

Carroll PM, Richards GW, Darrow AL, Wells JM, Strickland S (1993) Preimplantation mouse embryos express a cell surface receptor for tissue-plasminogen activator. Development 119, 191-198

Casao A, Mendoza N, Perez-Pe R, Grasa P, Abecia JA, Forcada F, Cebrian-Perez JA, Muino-Blanco T (2010) Melatonin prevents capacitation and apoptotic-like changes of ram spermatozoa and increases fertility rate. J Pineal Res 48, 39-46

Chen L, Nakai M, Belton RJ, Nowak RA(2007) Expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer and matrix metalloproteinases during mouse embryonic development. Reproduction 133, 405-414

Crippa MP (2007) Urokinase-type plasminogen activator. Int J Biochem Cell Biol 39, 690-694

Dano K, Andreasen PA, Grondahl-Hansen J, Kristensen P, Nielsen LS, Skriver L (1985) Plasminogen Activators, Tissue Degradation, and Cancer. Adv Cancer Res 44, 139-266

de Kretser DM, Loveland KL, Meinhardt A, Simorangkir DR, Wreford NG (1998) Spermatogenesis. Human Reproduction 13, 1-8

Ding XF, Shang XJ, Li HG, Guan HT, Xiong CL (2007) Effect of urokinase-type plasminogen activator on the mitochondrial membrane potential of mouse capacitated spermatozoa in vitro. Zhonghua Man Ke Xue 13, 391-395

Dobrovolsky AB, Titaeva EV (2002) The fibrinolysis system: regulation of activity and physiologic functions of its main components. Biochemistry (Mosc) 67, 99-108

Duc-Goiran P, Mignot TM, Bourgeois C, Feree F (1999) Embryo maternal interactions at the implantation site: a delicate equilibrium. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 83, 85-100

Duffy MJ., Maguire TM, McDermott EW, O'Higgins N(1999) Urokinase plasminogen activator: A prognostic marker in multiple types of cancer. J Surg Oncol 71, 130-135

Ebisch IMW, Thomas CMG, Wetzels AMM., Willemsem WNP, Sweep FCGJ, Steegers-Theunissen RPM (2008) Review of the role of the plasminogen activator system and vascular endothelial growth factor in subfertility. Fertil Steril 90, 2340-2350

Estelles A, Gilabert J, Aznar J, Loskutoff DJ, Scheef RR (1989) Changes in the plasma levels of type 1 and type 2 plasminogen activator inhibitors in normal pregnancy and in patients with severe preeclampsia. Blood 74, 1332-1338

Everts V, van der Zee E, Creemers L, Beertsen E (1996) Phagocytosis and intracellular digestion of collagen, its role in turnover and remodelling. Histochem J 28, 229-245

Fazleabas AT, Geisert RD, Bazer FW, Roberts RM (1983) Relationship between release of plasminogen activator and estrogen by blastocysts and secretion of plasmin inhibitor by uterine endometrium in the pregnant pig. Biol Reprod 29, 225-238

Fernandez-Monreal MN, Lopez-Atalaya JP, Benchenane K, Cacquevel M, Dulin F, Le Caer JP, Rossier J, Jarrige AN, MacKenzie ET, Colloc'h N, Ali C, Vivien D (2004) Arginine 260 of the amino-terminal domain of NR1 subunit is critical for tissue-type plasminogen activator-mediated enhancement of N-methyl-D-aspartate receptor signaling. J Biol Chem 279, 50850-50856

Floridon C, Nielsen O, Holund B, Sweep F, Sunde L, Thomsen SG, Teisner B (2000) Does Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) Control Trophoblast Invasion? A Study of Fetal and Maternal Tissue in Intrauterine, Tubal and Molar Pregnancies. Placenta 21, 754-762

Gaffney PJ (1975) Distinction between fibrinogen and fibrin degradation products in plasma. Clin Chim Acta 65, 109-115

Gabler C, Killian GJ, Einspanier R (2001) Differential expression of extracellular matrix components in the bovine oviduct during the oestrous cycle. Reproduction 122, 121-130

Geiger M, Heeb MJ, Binder BR, Griffin JH (1988) Competition of activated protein C and urokinase for a heparin-dependent inhibitor. FASEB 2, 2263-2267

Houlihan CM, Knuppel RA, Vintzileos AM, Gui JZ, Hahn DW (1996) The effect of specific hormones on fibrinolysis in pregnancy. Am J Obstet Gynecol 175, 168-172

Huarte J, Belin D, Vassali JD (1985) Plasminogen activator in mouse and rat oocytes: Induction during meiotic maturation. Cell 43, 551-558

Huarte J, Belin D, Bosco D, Sappino AP, Vasali JD (1987) Plasminogen activator and mouse spermatozoa: Urokinase synthesis in the male genital tract and binding of the enzyme to the sperm cell surface. J Cell Biol 104, 1281-1289

Huarte J, Vassalli JD, Belin D, Sakkas D (1993) Involvement of the Plasminogen Activator/ Plasmin Proteolytic Cascade in Fertilization. Dev Biol 157, 539-546

Infante V, Amirante R, Vaccaro MC, Wilding M, Campanella C (2001) The cytoskeleton and motor proteins of human schistosomes and their roles in surface maintenance and host-parasite interactions. Bioessays 26, 752-765

Jabbour HN, Sales KJ Catalano RD, Norman JE (2009) Inflammatory pathways in female reproductive health and disease. Reproduction 138, 903-919

Jin M, Fujiwara E, Kakiuchi Y, Okabe M, Satouh Y, Baba S, Chiba K, Hirohashi N (2011) Most fertilizing mouse spermatozoa begin their acrosome reaction before contact with the zona pellucida during in vitro fertilization. Proc Natl Acad Sci USA 108, 4892-2896

Karakji EG, Tsang BK (1995) Regulation of rat granulosa cell plasminogen activator system: influence of interleukin-1 beta and ovarian follicular development. Biol Reprod 53, 1302-1310

Kim TS, Sa SJ, Shin MY, Jang DM, Kwon SH, Cho KH, Park CK, Lee DS (2009) Stimulation of plasminogen activator activity by free radicals in boar spermatozoa. Anim Reprod Sci 114, 228-237

Koh S, Wong PC, Yuen R, Chua SE, Nq BL, Ratnam SS (1992) Concentration of plasminogen activators and inhibitor in the human endometrium at different phases of the menstrual cycle. J Reprod Fertil 96, 407-413

Kokoli AN, Lavrentiadou SN, Zervos IA, Tsantarliotou MP, Georgiadis MP, Botsoglou C, Boscos C, Taitzoglou IA (2010) Stimulation of plasminogen activator activity and apoptosis by lipid peroxidation in n-3-PUFA-enriched rabbit spermatozoa. Ptotective effect of green tea catechins. J Thromb Haemost 8, 53

Kokolis N, Alexaki-Tzavanidou A, Smokovitis A (1987) The role of plasminogen activator activity in the ovulation of the sow. In Roche, J.F., Callghan, D.O. (Eds.), Follicular Growth and Ovulation Rate in Farm Animals. Martinus Nijhof, The Hague, pp 215-220

Kouba AJ, Burkhardt BR, Alvarez IM, Goodenow MM, Buhi WC (2000) Oviductal plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1): mRNA, protein, and hormonal regulation during the estrous cycle and early pregnancy in the pig. Mol Reprod Dev 56, 378-386

Kruithof EK και Bachmann F (1986) Fibrinolysis in pregnancy. Thromb Res 41, 21

Kruithof EK (1988) Plasminogen activator inhibitors - a review. Enzyme 40, 113-121

Leoni G, Ledda S, Bogliolo L, Naitana S (2000) Novel approach

to cell sampling from preimplantation ovine embryos and its potential use in embryonic genome analysis. J Reprod Fertil 119, 309-314

Li M, Karakji EG, Xing R, Fryer JN, Carnegie JA, Rabbani SA, Tsang BK (1997) Expression of urokinase-type plasminogen activator and its receptor during ovarian follicular development. Endocrinology 138, 2790-2799

Liu YX., Du Q, Liu K, Fu GO (1995) Hormonal regulation of plasminogen activator in rat and mouse seminiferous epithelium. Biol Signals 4, 232-240

Liu K, Liu YX, Du Q, Zhou HM, Lin X, Hu ZY, Zhang GY, Zhang GH,(1996) Preliminary studies on the role of plasminogen activator in seminal plasma of human and rhesus monkey. Mol Hum Reprod 2, 99-104

Liu, YX. (2005) Control of spermatogenesis in primate and prospect of male contraception. Arch Androl 51, 77-92

Liu YX (2007) Involvement of plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor Type 1 in spermatogenesis, sperm capacitation, and fertilization. Semin Thromb Hemost 33, 29-40

Martinez-Hernadez MG, Baiza-Gutman LA, Castillo-Trapala A, Armant DR (2011) Regulation of proteinases during mouse peri-implantation development: urokinase-type plasminogen activator expression and cross talk with matrix metalloproteinase 9. Reproduction 141, 227-239

Meizel, S (1985) Molecules that initiate or help stimulate the acrosome reaction by their interaction with the mammalian sperm surface. Am J Anat 174, 285-302

Menino AR, Williams JS (1994) Suppression of plasminogen activator production in sheep embryos in vitro after treatment with cycloheximide or ouabain. J Reprod Fertil 102, 65-71

Mikuni M, Mitsube K, Peterson CM, Brannstrom M (2009) Glucocorticoid suppression of intraovarian levels of prostaglandins and plasminogen activator activity at ovulation in the rat ovary. J Obstet Gynaecol Res 35, 1005-1011

Moraitis S, Taitzoglou IA, Tsantarliotou M, Boscos C, Kaldrimidou E, Saratsis Ph (2004) Involvement of the plasminogen activation system in cow endometritis. Theriogenology 61, 337-349

Murdoch WJ (1998) Regulation of collagenolysis and cell death by plasmin within the formative stigma of preovulatory ovine follicles. J Reprod Fertil 113, 331-336

Murdoch J, Van Kirk A, Murdoch W (1999) Hormonal control of urokinase plasminogen activator secretion by sheep ovarian surface epithelial cells. Biol Reprod 61, 1487-1491

Nandi S, Ravindranatha BM, Gupta PS, Raghu HM, Sarma PV (2003) Developmental competence and post-thaw survivability of buffalo embryos produced in vitro: effect of growth factors in oocyte maturation medium and of embryo culture system. Theriogenology 60, 1621-1631

Ny A, Leonardsson G, Hagglund A, Hagglof P, Ploplis V, Carmeliet P, Ny T (1999) Ovulation in plasminogen-deficient mice. Endocrinology 140, 5030-5035

Ohnishi J, Ohnishi E, Shibuya H, Takahashi T (2005) Functions for proteinases in the ovulatory process. Biochim Biophys Acta (BBA) - Proteins & Proteomics 1751, 95-109

Otter M, Kuiper J, van Berkel TJ, Rijken DC (1992) Mechanisms of tissue type-plasminogen activator (tPA) clearance by the liver. Ann NY Acad Sci 667, 431-442

Papadimitriou S, Tsantarliotou M, Makris G, Papaioannou N, Batzios Ch, Kokolis N, Dessiris A (2006) A clinical study of plasminogen activator activity in gingival tissue in dogs with gingivitis and periodontitis. Res Vet Sci 80, 189-193

Papanikolaou T, Amiridis GS, Dimitriadis I, Vainas E, Rekkas CA (2008) Effect of plasmin, plasminogen activators and a plasmin inhibitor on bovine in vitro embryo production. Reprod Fertil Dev 20, 320-327

Ploumis Th (1992) The effect of pregnancy and lactation on tissue fibrinolysis. Doctoral Thesis. Thessaloniki (in greek with english abstract)

Raum D, Marcus D, Alper CA (1980) Genetic polymorphism of human plasminogen. Am J Hum Genet 32, 681-689

Rekkas C, Belibasaki S, Taitzoglou I, Kokolis N, Smokovitis A (1991) Increased plasminogen activator activity and plasminogen activator inhibition in spermatozoa and seminal plasma of the ram after serum gonadotrophin (PMSG) administration. Correlation with the increased level of testosterone in the blood. Andrologia 23, 273-278

Rekkas C, Kokolis N, Smokovitis A (1993) Breed and seasonal variation of plasminogen activator activity and plasminogen activator inhibition in spermatozoa and seminal plasma of the ram in correlation with testosterone in the blood. Andrologia 25, 101-109

Rekkas C, Kokolis N, Belibasaki S, Tsantarliotou M, Smokovitis A (2000) Effect of [alpha]-tocopherol on plasma testosterone and plasminogen activator activity or inhibition in ram spermatozoa. Theriogenology 53, 751-760

Rekkas C, Besenfelder A, Havlicek V, Vainas E, Brem G (2002) Plasminogen activator activity in cortical granules of bovine oocytes during in vitro maturation. Theriogenology 57, 1897-1905

Rijken DC, Groeneveld E (1991) Substrate specificity of tissue-type and urokinase-type plasminogen activators. Biochem Biophys Res Commun 174, 432-438

Roldan-Olarte M, Jimenez-Diaz M, Miceli DC (2005) Plasminogen detection in oocytes and plasminogen activator activities in the porcine oviduct during the estrus cycle. Zygote 13, 115-123

Sa SJ, Rhee HH, Cheong HT,Yang BK, Park CK (2006) Effects of plasmin on sperm-oocyte interactions during in vitro fertilization in the pig. Anim Reprod Sci 95, 273-282

Saksela O (1985) Plasminogen activation and regulation of pericellular proteolysis. Biochim Biophys Acta 823, 35-65

Sappino AP, Huarte J, Belin D, Vassali JD (1989) Urokinase-type plasminogen activator mRNA in implanting murine embryos. Fibrinolysis 3, 35

Shimada H, Okamura H, Espey LL, Mori T (1985) Increase in plasminogen activator in the involuting uterus of the postpartum rat. J Endocrinol 104, 295-298

Shimada H, Takashima E, Soma M, Murakami M, Maeda Y, Kasakura D, Takada A, Takada Y (1989) Source of increased plasminogen activators during pregnancy and puerperium. Thromb Res 54, 91-98

Smokovitis A, Kokolis N, Alexopoulos C, Alexaki E, Eleftheriou E (1987) Plasminogen activator activity, plasminogen activator inhibition and plasmin inhibition in spermatozoa and seminal plasma of man and various animal species-Effect of plasmin on sperm motility. Fibrinolysis 1, 253-257

Smokovitis A, Kokolis N, Alexaki-Tzivanidou E (1988) The plasminogen activator activity is markedly increased mainly at the area of rupture of the follicular wall at the time of ovulation. Anim Reprod Sci 16, 285-294

Smokovitis A, Kouimtzis S, Koutsouris C, Kokolis N, Kouskoura T (1989) The effects of intrafollicular injections of plasmin and E-aminocaproic acid on the ovulation in the ewe. Fibrinolysis 3,

227-230

Smokovitis A, Kokolis N, Taitzoglou I, Rekkas C (1992a) Plasminogen activator: the identification of an additional proteinase at the outer acrosomal membrane of human and boar spermatozoa. Int J Fertil 37, 308-314

Smokovitis A, Rekkas C, Vainas E, Kokolis N, Taitzoglou I (1992b) The effect of chromosomal anomalies on the plasminogen acrivator activity, plasminogen activator inhibition and plasmin inhibition in spermatozoa and seminal plasma. Chromosomal chimaerism XX/XY in the ram. Anim Reprod Sci 29, 241-254

Strickland S, Huarte J, Belin D, Vassalli A, Rickles RJ, Vassalli JD (1988) Antisense RNAdirected against the 3_ noncoding region prevents dormant mRNA activation in mouse oocytes. Science 241, 680–684

Suenson E, Lutzen O, Thorsen S (1984) Initial plasmin-degradation of fibrin as the basis of a positive feed-back mechanism in fibrinolysis. Eur J Biochem 140, 513-522

Taitzoglou I, Kokolis N, Smokovitis A (1996) Release of plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor from spermatozoa of man, bull, ram and boar during acrosome reaction. Mol Androl 8, 187-197

Taitzoglou IA, Tsantarliotou M, Kouretas D, Kokolis N (1999) Gossypol-induced inhibition of plasminogen activator activity in human and ovine acrosomal extracts. Andrologia 31, 355-359

Taitzoglou IA, Tsantarliotou M, Zervos I, Kouretas D, Kokolis NA (2001) Inhibition of human and ovine acrosomal enzymes by tannic acid in vitro. Reproduction 121, 131-137

Taitzoglou IA, Chapman DA, Killian GJ (2003) Induction of the acrosome reaction in bull spermatozoa with plasmin. Andrologia 35, 112-116

Taitzoglou IA, Chapman DA, Zervos I, Killian G (2004) Effect of plasmin on movement characteristics of ejaculated bull spermatozoa. Theriogenology 62, 553-561

Takada A, Sugawara Y, Takada Y (1989) Enhancement of the activation of Glu-plasminogen by urokinase in the simultaneous presence of tranexamic acid or fibrin. Haemostasis 19, 26-31

Talbot P, Franklin LE (1978) Trypsinization increases lectin-induced agglutinability of uncapacitated guinea pig sperm. J Exp Zool 204, 291-297

Tanikawa M, Kim TS, Okuda K, Ryoo ZY, Park SB, Shin JH, Park CK, Lee DS (2009) Cell-type specificity of interleukins 1α and 1β on prostaglandin and plasminogen activator production in bovine endometrial cells. Anim Reprod Sci 114, 32-42

Tao YX, Lei ZM, Hofmann GE, Rao CV (1995) Human intermediate trophoblasts express chorionic gonadotropin/luteinizing hormone receptor gene. Biol Reprod 53, 899-904

Towhidi A, Mehrabani YH, Daliri JM, Ranjbar A, Zhandi M (2009) Effect of plasmin and heparin on in vitro ovine sperm-oocyte interaction. African J Biotechnol 8, 3677-3681

Tsafriri A., Biscak TA, Cajander SB, Ny T, Hsueh A (1989) Suppresion of ovulation rate by antibodies to tissue-type plasminogen activator and α2–antiplasmin. Endocrinology 124, 412-421

Tsantarliotou MP., Zervos IA, Vatzias G, Billinis C, Taitzoglou I, Kokolis N (2005) Plasminogen activator activity in the porcine oviduct during the oestrous cycle. Theriogenology 64, 1007-1015

Tsantarliotou MP, Lavrentiadou S, Georgiadis M, Zervos I (2006) Plasminogen activator activity in rat epididymal spermatozoa. Reprod Domest Anim 41, 326

Tsantarliotou, MP, Lavrentiadou SN, Zervos IA, Kokolis AN, Taitzoglou IA (2008a) Role of the plasminogen activation system in extracellular matrix degradation processes in normal or pathological conditions in sheep. Small Rum Res 76, 120-130

Tsantarliotou MP, Kokolis AN, Smokovitis A (2008b) Melatonin administration increased plasminogen activator activity in ram spermatozoa. Theriogenology 69, 458-465

Van Hinsbergh VW (1988) Regulation of the synthesis and secretion of plasminogen activators by endothelial cells. Haemostasis 18, 307-327

Vassali JD, Dayer JM, Wohlwend A, Belin D (1984) Contaminant secretion of prourokinase and of a plasminogen activator-specific inhibitor by cultured human monocytes-macrophages. J Exp Med 159, 1653-1668

Vihko KK, Toppari J, Parvinen M (1987) Stage-specific regulation of plasminogen activator secretion in the rat seminiferous epithelium. Endocrinology 120, 142-145

Vihko KK, Penttila TL, Parvinen M, Belin D (1989) Regulation of urokinase- and tissue-type plasminogen activator gene expression in the rat seminiferous epithelium. Mol Endocrinol 3, 52-59

Wang X, Lee SR, Arai K, Lee SR, Tsiju K, Rebbecj GW, Lo EH (2003) Lipoprotein receptor-mediated induction of matrix metalloproteinase by tissue plasminogen activator. Nature Med 9, 1313-1317

Wiman B (1995) Plasminogen Activator inhibitor 1 (PAI-1) in plasma: its role in thrombotic disease. Thromb Haemost 74, 71-76

Wee Yong V, Power Ch, Forsyth P, Edwards DR (2001) Metalloproteinaises in biology and pathology of the nervous system. Neuroscience 2, 502-511

Yanagimachi R (1994) Mammalian fertilization. In: Knobil E, Neill JD, editors. The physiology of reproduction, New York: Raven Press, 189–318

Zervos IA, Tsantarliotou MP, Vatzias G, Goulas P, Kokolis NA, Taitzoglou IA (2005) Effects of dietary vitamin A intake on acrosin and plasminogen activator activity of ram spermatozoa. Reproduction 129, 707-715

Zervos IA, Lavrentiadou SN, Tsantarliotou MP, Georgiadis MP, Kokolis NA, Taitzoglou IA (2010) Seasonal variation of plasminogen activator activity in spermatozoa and seminal plasma of boar, buck, bull and stallion. Reprod in Dom Anim 45, 440-446

Zhang X, Rutledge J, Kamsi F, Armstrong DT (1992) Release of tissue-type plasminogen activator by activated rat eggs and its possible role in the zona reaction. Mol Reprod Dev 32, 28-32

Zhang X, Kidder GM, Zhang C, Khamsi F, Armstrong DT (1994) Expression of plasminogen activator genes and enzymatic activities in rat preimplantation embryos. J Reprod Fertil 101, 235-240

Zhang T, Zhou HM, Liu YX (1997) Expression of plasminogen activator and inhibitor, urokinase receptor and inhibin subunits in rhesus monkey testes. Mol Hum Reprod 3, 223-231

Zheng P, Zhou RJ, Liu YX (2001) Source of plasminogen activator in rhesus monkey semen and its possible role in sperm capacitation. Sheng Li Xue Bao 53, 45-50

Zhou H, Vassalli JD (1997) The receptor for urokinase-type plasminogen activator is expressed during mouse spermatogenesis. FEBS Letters 413, 11-15

Zhuo M, Holtzman DM, Li Y, Osaka H, DeMaro J, Jacquin M, Bu G (2000) role of tissue plasminogen activator receptor lrp in hippocampal long-term potentiation. J of Neurol 15, 542-549