

# Hedelmöityksen ihme

Joulun ihme, Jeesuksen syntymä Pyhästä Hengestä sikiämisen jälkeen, on tapahtumana ainutkertainen, ja sitä on hyvin vaikea lähestyä biolääketieteen keinoin. Paljon tavallisempi tapahtuma, munasolun hedelmöittyminen siittiön avulla, on kuitenkin yhä huonosti ymmärretty tapahtuma, jossa riittää tutkijoille ihmettä kerrakseen. Miten siittiö löytää perille munasolun luokse?

**K**uvat tai piirroukset h-hetkestä, hedelmöitymistapahtumasta, kuvaavat yleensä suurta munasolua, jota lukuisat siittiöt piirittävät joka puolelta – ja yksi niistä onnistuu tehtävässään muiden jäädessä hedelmöityksen jälkeen munasolun ulkopuolelle (KUVA 1). Jos kuitenkin palautamme mieleen tapahtumien kulun ennen hedelmöityshetkeä, saamme käsityksen tehtävän vaikeudesta. Emättimen pohjukasta, johon siemenneste purkautuu, on matkaa hedelmöitysmiskohtaan yhteensä toistakymmentä senttimetriä. Ihmisen siittiö on pituudeltaan 40 µm, joten sillä on taitettavanaan ainakin 3 000-kertainen matka omaan mittaansa verrattuna. Kömpelönä vertauksena voi laskea, että jos siittiö olisi miehen mittainen, edessä olisi reilun viiden kilometrin uintitehtävä vailla varmuutta perillepääsystä. Siittiöitä lähtee liikkeelle aluksi pari kolmesataamiljoonaa, mutta vain muutama kymmenen tai sata siittiötä – eli noin joka miljoonas matkaan lähtijä



Pyhää Mariaa esittävä veistos St. Estèphen kirkossa Ranskassa. Huomaa pyhimyskehän jättämän varjon viesti. Hedelmöitystapahtuma poikkeaa tästä olennaisesti.

motaktisista ohjausmekanismeista. Jollei tämä kuulosta vielä riittävän ihmeelliseltä, näkökulmaa voi laajentaa siihen, että jopa eri nisäkäillä järjestelmän yksityiskohdat vaihtelevat suuresti lajien välillä, vaikka kyse on kovin perustavanlaatuisesta elämän jatkumisen edellytyksestä. Tämä katsaus keskittyy erityisesti ihmisillä tehtyihin havaintoihin.

Tulevan äidin elimistö auttaa ohjaamaan siittiöitä perille munasolun luokse, mutta se asettaa myös hankalia esteitä siittiön tielle. On jopa arveltu, että esteiden tarkoitus olisi valinta, vain parhaiden ja voimakkaimpien siittiöiden päästäminen munasolun läheisyyteen. Tämän kirjoittajalle on kuitenkin jäänyt hämäräksi, miten parhaiten uivan siittiön arvellaan edistävän muuten hyödyllisimpien geenien valikoitumista jälkeläiselle Darwinin periaatteiden mukaisesti.

### Matkan ensimmäinen vaihe: kohdunkaula

Jo minuuttien kuluessa siemensyöksystä siittiöitä voidaan löytää kohdunkaulan kanavasta. Nopea poistuminen emättimestä onkin siittiöille elintärkeää, sillä emättimen pH on selvästi hapan, mikä puolestaan toimii suojana infektioita vastaan. Siemenneste on emäksistä ja neutralisoi hetkellisesti happamuuden. Estrogeenin vaikutuksesta kohdunsuun erite koostuu hyvin vesipitoisesta limasta, ja suuren vesipitoisuuden on todettu edistävän siittiöiden läpikäymistä. Veden lisäksi lima sisältää pitkäketjuisia musiineita, joiden arvellaan asettuvan pitkittäin kanavan suuntaisesti ja edistävän siten siittiöiden ohjautumista. Lima on kuitenkin este huonosti liikkuville siittiöille, ja jälkeensä jääneet siittiöt jäävät fagosytoitavien valkosolujen saaliiksi.

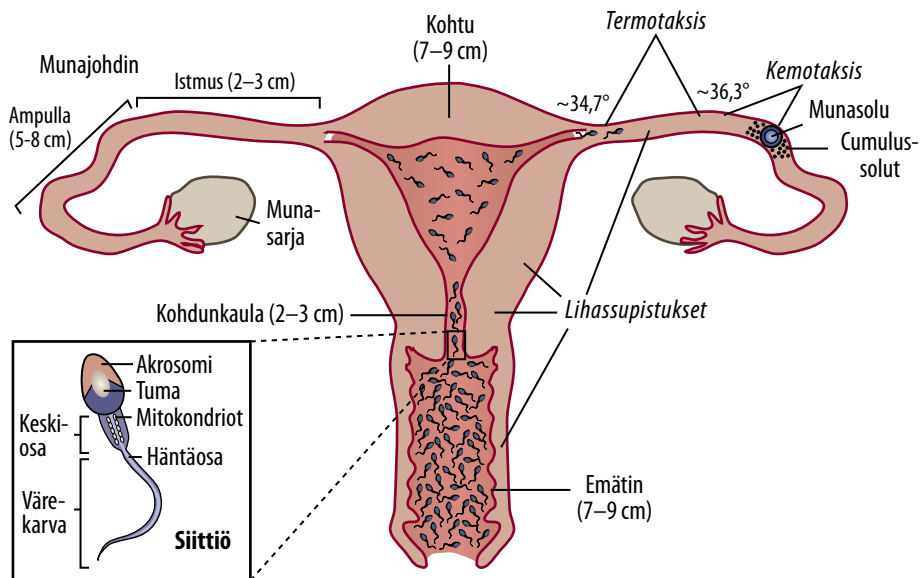
### Toinen vaihe: kohtu

Kohtuontelo on 5–8 cm:n mittainen, ja siittiöiden uimavauhdilla sen poikki pääsemisen kestää vähintään kymmenisen minuuttia. Viiden millimetrin minuuttivauhdilla siittiö etenee nopeammin kuin sata kertaa oman pituutensa verran minuutissa, mikä jättää jäl-

– on mukana loppukilpailussa, joka tapahtuu munanjohtimessa.

### Ei sattumaa, vaan ohjausta

Tarkka maaliin hakeutuminen on tietysti härttänyt epäilyt siitä, että siittiöitä ohjaa perille erityinen ohjausjärjestelmä (KUVA 2). Sen luonnetta on alettu ymmärtää vasta parin viime vuosikymmenen kuluessa, eivätkä monetkaan yksityiskohdat ole vielä selvillä (Eisenbach ym. 2006, Suarez ja Pacey 2006, Ikawa ym. 2010). Ohjausjärjestelmä koostuu useasta osasta: siittiöiden aktiivisesta uinnista, kohdunkaulan, kohdun ja munatorvien rakenteellisista ja toiminnallisista ohjauskeinoista, tarkasta ajoituksesta immuunijärjestelmän välttämiseksi, siittiöiden varastoinnista ja kypsyttämiseksi munanjohtimessa loppukiriä varten sekä siittiöiden termotaktisista ja ke-



**KUVA 2.** Siittiön rakenne ja sen matka emättimestä munasolun luokse.

keensä kaikki suhteellisesti samaan vauhtiin pyrkivät uimarit. Liikettä edistää kuitenkin myös kohdun sisimmän sileän lihaseinämän supistelu aaltomaisesti kohti munanjohtimien suuaukkoja. Supistelun ajatellaan myös imevän siittiöitä sisältävää kohdunkaulan limaa sisemmäksi. Tämä edistää siittiöiden mahdollisuuksia selvitä eteenpäin. Tuntien kuluessa yhdynnästä kohdun lima kansoittuu myös fagosytoivilla valkosoluilla, lähinnä neutrofiileilla, ja taas jälkeen jäävien siittiöiden kohtalo on tulla syödyksi alkumatkasta.

### Kolmas vaihe: munanjohtimien suuaukko ja munanjohtin

Munanjohtimen suuaukossa on jälleen limaa, jonka läpäisy onnistuu parhaiten voimakkaasti ja suoraan uivilta siittiöiltä. Ihmisellä siittiöitä on löydetty munanjohtimista alle tunnin kulluttua yhdynnästä. Munanjohtimissa siittiöt kiinnittyvät värekarvalliseen epiteeliin ja jäävät siihen kiinni päiviksi muodostaen välivaraston, josta ne sitten jatkavat eri tahdissa matkaansa kypsyysvaiheen jälkeen. Munanjohtimeen ei kerry valkosoluja samalla tavoin kuin kohdunsuuhun ja kohtuun, ja siittiöt voivat

säilyttää hedelmöittämiskykynsä päiväkausia epiteelin värekarvojen suojissa pääosastaan niihin kiinnittyneinä (KUVA 3). Kiinnittymiseen käytettävien molekyylien luonne on tuntematon, vaikka sekä sokeriketjujen että lyhyiden peptiditunnistussekvenssien on ehdotettu osallistuvan siihen.

Siittiöt vapautuvat epiteelistä vähitellen kahden erityisen kypsymistapahtuman jälkeen, kun ne ovat kapasitoituneet ja hyperaktivoituneet. Kapasitaatio tarkoittaa monenlaisia solukalvomuutoksia, jotka mahdollistavat myöhemmin siittiön akrosomireaktion ennen hedelmöittämistä. Vain noin joka kymmenes tänne asti päässeistä siittiöistä kapasitoituu, joten tässäkin vaiheessa kato on suuri. Hyperaktivaatiossa siittiöiden värekarvan lyöntitapa muuttuu, ja siittiöt alkavat uida epäsäännöllisen muotoisia, spiraalimaisia ratoja pitkin. Hyperaktivaatio myös mahdollistaa siittiöiden kääntyilyn ja lopulta tunkeutumisen zona pelucidan läpi. Kapasitoituneiden ja hyperaktivoituneiden siittiöiden jäljellä oleva toiminta-aika on lyhyt, vain muutama tunti. Elleivät ne sinä aikana onnistu hedelmöittämisessä, saavat myöhemmin epiteelistä vapautuvat siittiöt tilaisuuden.

## Kohti maalia: lämpö- ja kemiallinen ohjaus

Muutaman jäljellä olevan senttimetrin matkalta tarvitaan kohdennettuja ohjausmekanismeja. Munanjohtimen eri osien välillä vallitsee pieni asteen parin lämpötilaero. Siittiöiden on osoitettu aistivan tämänsuuruisia eroja ja ohjautuvan kohti lämpöä, mutta lämpötunnistimien luonne on tuntematon. Lopullinen ohjaus perille munasolun luokse on kuitenkin kemotaktinen, ja sekä munasolua ympäröivien kumulussolujen että munasolun itsensä on osoitettu erittävän siittiöitä houkuttelevia kemotaktisia aineita. Vain kapasitoituneet siittiöt ovat vastaanottavaisia kemotaktisille signaaleille, joista parhaiten tunnettu on munasolua ympäröivien kumulussolujen erittämä progesteroni.

Koska progesteroni on steroidihormoni, sen vaikutustavan on yleensä ajateltu välittävän progesteronireseptorin kautta, joka edelleen sitoutuu DNA:han ja ohjaa geenien ilmentymistä. Siittiöt eivät kuitenkaan enää lue RNA:ta, joten progesteronin vaikutuksen täytyy välittyä kokonaan toisenlaisella me-

kanismilla. Progesteronin kohdemolekyyli siittiöissä tunnistettiin vasta viime keväänä: se on siittiöiden värekarvassa oleva kalsiumkanaava CatSper suoraan ilman toisiolähehtien vaikutusta. Kalsiumin sisäänvirtauksen on puolestaan osoitettu säätelevän suoraan värekarvan lyömistä ja hyperaktivaatiota. Joidenkin tulosten mukaan tosin siittiöissä voidaan havaita myös toisiolähehtien aktivoituminen progesteronin vaikutuksesta, joten kohdemolekyyliä saattaa olla useita.

Kumulussoluihin ohjautuminen pääasiassa progesteronisignaalia seuraamalla vie siittiöt lähelle kohdetta mutta ei perille. Progesteroni ei myöskään kelpaa selittämään munasoluun ohjautumista, sillä hormonin huippupitoisuus on kumulussoluissa.

Progesteronin lisäksi monen muunkin yhdisteen on osoitettu toimivan kemotaktisena houkuttimena siittiöille. Tällaisia ovat muun muassa T-lymfosyyttien erittämänä tunnettu kemokiini RANTES, sydänperäinen atriaalinen natriureettinen peptidi ANP ja eräät muut pienimolekyyliset peptidit. Näitä on löydetty erityisesti munarakkulanesteestä, ja on mahdollista, että ne muodostavat pitkän matkan kemotaktisen houkuttimen, joka lämpögradientin lisäksi ohjaa matkalla kohti munanjohtimen alkupäätä. Tällä tärkeällä ohjausmekanismilla on todennäköisesti monia välittäjiä.

## Tuoksut vievät perille?

Mikä voisi olla lopullinen houkutin, joka vie munasolun äärelle? Se tai ne ovat vielä tunnistamatta, mutta monet havainnot viittaavat nyt siihen, että tuoksulla voi olla osuutensa asiassa. Richard Axel ja Linda Buck selvittivät aikanaan hajuaistin kemiallisen mekanismin.

He osoittivat kunkin aistinsolun ilmentävän vain yhtä sadoista erilaisista olfaktorireseptorimolekyyleista. Tästä heidät palkittiin Nobelin palkinnolla vuonna 2004.

Hajureseptoreiden ilmentymistä pidettiin pitkään täysin aistinsoluihin rajattuna. Viime aikoina niitä on kuitenkin löydetty muistakin solutyypeistä, ja kiveksissä ilmennetään ainakin 83:a erilaista hajureseptorimolekyyliä. Ihmisen siittiöissä on tutkittu yksityiskohtaisesti kolmen niiden ilmentävän eri reseptorin (OR1D2, OR4D1 ja OR7A5) toimintaa (Veitinger ym. 2011). Toisin kuin hajureseptorisolut, kukin siittiö ilmentää useita eri reseptorimolekyyleja ja ohjautuu kohti reseptorien tunnistamia hajuaineita. Kokeissa käytetyt hajuaineet on löydetty synteettisiä kemiallisia kirjastoja seulomalla, ja mahdolliset munasolun tuottamat luonnolliset tuoksut ovat vielä tunnistamatta.

Hajureseptorit sopivat monella tavalla selittämään siittiöiden ohjautumista. Ihmisenkin perimässä on hyvin säilyneenä 400 hajureseptorigeeniä, vaikka hajuaistin merkitys meille on vähäinen. Monet kiveksissä ilmennetyt hajureseptorigeenit ovat vähemmän muuntuneita kuin geeniperheen muut jäsenet. Tämä sopisi luonnonvalinnan vaikutukseen ehkä tärkeän siittiöiden ohjaustehtävän vuoksi. Hajureseptorit ovat tyypillisiä G-proteiinireseptoreja ja viestittävät syklisen AMP:n ja kalsiumin säätelyn avulla. Kalsium taas ohjaa suoraan värekarvan toimintaa. Tuoksuilla saattaa siten olla syvempääkin merkitystä lisääntymisfysiologian kannalta kuin parfyyminvalmistajat ja parfyymien lukuisat käyttäjät osaavat kuvitellaan.

## Perille!

Kumulussolujen väliaine koostuu lukuisista solunulkaisen väliaineen tyypillisistä molekyyleista, kuten hyaluronihaposta, dermataanisulfaatista, fibronektiinista ja laminiinista. Siittiön täytyy läpäistä tämäkin este ennen kuin se voi kiinnittyä zona pellucidaan. Zona pellucidan läpäisyn jälkeen jäljellä on vain siittiön solukalvon sulautuminen munasolun solukalvon kanssa ja siittiön siirtyminen mu-

nasoluun. Siittiön läpäistessä kumulussolukerrosta tapahtuu akrosomireaktio, jossa siittiö vapauttaa annoksen erilaisia proteolyttisiä entsyymeitä. Kalsiumsignaalin avulla on arveltu olevan tärkeä osa akrosomireaktion säätelyssä.

Siittiöt ilmentävät myös integriinejä, jotka toimivat monien soluväliaineen glykoproteiinien reseptoreina. Hiljattain on osoitettu sekä fibronektiinin että laminiinin voivan laukaista akrosomireaktion progesteronin läsnäollessa. Välittävään mekanismiin osallistuvat ainakin Src-kinaasi ja proteasomin fosforylaatio ja aktivaatio solunsisäisen kalsiumin lisäksi (Tapia ym. 2011). Proteolyyttisten entsyymien vapautuminen akrosomista mahdollistaa siittiön etenemisen. Hiirikokeissa näihin ilmiöihin vaikuttavia geenejä on voitu tutkia kokeellisesti poistogeenitekniikoiden avulla paljon ihmisaineistoja enemmän, mutta lajien välillä on varmuudella monia fysiologisia eroja. Siksi hiirikokeissa löydettyjen ehdokasgeenien merkitys ihmisen lisääntymiselle pitäisi erikseen varmistaa. Työlistalla on kymmeniä geenejä.

Zona pellucidassa siittiö kiinnittyy sen kolmesta pääproteiinikomponentista ZP3-proteiiniin (Han ym. 2010). ZP3:n kiderakenteen analyysi viittaa siihen, että viimeistään tässä vaiheessa tapahtuu siittiön lajikohtainen tunnistus, eikä väärän lajin siittiö todennäköisesti onnistu kiinnittymään munasolua ympäröivään zona pellucidaan. On edelleen epäselvää, miten useamman siittiön pääsy munasoluun estyy.

## Mistä voima liikkeeseen?

Siittiöiden energiantarve liikkumista varten täytetään pääosin glykolyysin avulla, ja tähän tarvittavat glykolyysin entsyymit sijaitsevat siittiön häntäosassa. Siittiöiden rakenteessa olennainen osa pään ja hännän lisäksi on mitokondrioiden täyttämä keskiosa, jossa glykolyysin tuottaman palorypälähapon jatkokäsittely tapahtuu. Anaerobisissa olosuhteissa tuotetaan edelleen maitohappoa. Anaerobinen energiantuotanto on suhteellisen tehotonta (vain noin 5 % verrattuna oksidatiivisen fosforylaation tuottoon) mutta nopeaa. Munanjohtimessa on glukoosia ja palorypälähappoa, 2471

mutta liikkuvalla solulle happea on tarjolla vain ympäröiviin nesteisiin liuenneena. Hyväkuntoiset mitokondriot ovat joka tapauksessa edellytys siittiön hedelmöityskyvylle. Siittiöille saattaa olla etua vähäisenkin tarjolla olevan hapen tehokkaasta hyödyntämisestä energiantuotantoon.

## Mitä hedelmöityksen jälkeen?

Hedelmöityksen tapahduttua käynnistyy monimutkainen ja tarkoin säädelty tapahtumaketju, jonka seurauksena hedelmöitynyt munasolu alkaa jakautua ja tytär溶ut rupeavat vähitellen erilaistumaan. Alkiosta muodostuu sikiö ja lopulta äidistä erkaneva vauva. Kaikkein varhaisimpien kehitystapahtumien tutkiminen on tähän saakka ollut vaikeaa, koska mittausmenetelmät eivät ole tarkkuudeltaan riittäneet yksittäisten solujen analysointiin. Aivan viime vuosina tilanne on muuttunut ratkaisevasti, ja käytössämme on nyt menetelmiä yksittäisen solun geeniekspression tutkimiseen. Julkaisimme jo aiemmin tuloksia tutkimuksesta, jossa selvitettiin munasolujen ja varhaisalkioiden (4-soluvaiheesta blastokystiin) geeniekspresioprofileja mikrosiruja mittausmenetelmänä käyttäen. Tulokset tarkentuvat nyt yksittäisten

solujen transkriptomin sekvensoinnilla. Voimme vastata kysymyksiin, mitkä ovat varhaisimmat transkriptiofaktorit, jotka käynnistävät alkionkehityksen, milloin alkion solut alkavat erilaistua ja mitkä transkriptiofaktorit säätelevät varhaisimpia erilaistumistapahtumia. Mutta tämä on jo toinen tarina.

## Lopuksi

Vaikka joulun ihme hiljentää meidät säännöllisesti ainutlaatuisen tapahtuman äärelle, voimme silloin tällöin muistaa pohtia elämän suurta toistuvaa ihmettä, hedelmöitystä ja uuden elämän syntyä. Läheskään aina yksikään siittiö ei löydä tietään perille munasoluun, ja monia vaivaa tahaton lapsettomuus. Aivan viime vuosina ja kuukausina olemme saaneet paljon uusia tietoja koko hedelmöittämissä tapahtuman eri vaiheisiin liittyvistä molekyyli-tason säätelymekanismeista, mutta silti monet elämän suuret kysymykset ovat yhä selittämättömiä. ■

### JUHA KERE, professori

Karolinska Institutet,  
Helsingin yliopisto  
ja Folkhälsans Genetiska Institut  
Institutionen för bioteknik och näringslära

\* \* \*

### Kiitokset

Kiitän Outi Hovattaa ja Luca Jovinaa inspiroivista keskusteluista sekä kaikkia Egg & Embryo -tiimimme jäseniä innostavasta yhteistyöstä alkionkehityksen säätelyn ymmärtämiseksi.

### KIRJALLISUUTTA

- Eisenbach M, Giojalas LC. Sperm guidance in mammals – an unpaved road to the egg. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2006;7:276–85.
- Han L, Monné M, Okumura H, ym. Insights into egg coat assembly and egg-sperm interaction from the X-ray structure of full-length ZP3. *Cell* 2010; 143:404–15.
- Ikawa M, Inoue N, Benham AM, Okabe M. Fertilization: a sperm's journey to and interaction with the oocyte. *J Clin Invest* 2010;120:984–94.

- Lishko PV, Botchkina IL, Kirichok Y. Progesterone activates the principal Ca<sup>2+</sup> channel of human sperm. *Nature* 2011;471:387–91.
- Oren-Benaroya R, Orvieto R, Gakamsky A, Pinchasov M, Eisenbach M. The sperm chemoattractant secreted from human cumulus cells is progesterone. *Human Reprod* 2008;23:2339–45.
- Suarez SS, Pacey AA. Sperm transport in the female reproductive tract. *Human Reprod Update* 2006;12:23–37.
- Tapia S, Rojas M, Morales P, Ramirez MA, Diaz ES. The laminin-induced acro-

some reaction in human sperm is mediated by Src kinases and the proteasome. *Biol Reprod* 2011;85:357–66.

- Veitinger T, Riffell JR, Veitinger S, ym. Chemosensory Ca<sup>2+</sup> dynamics correlate with diverse behavioral phenotypes in human sperm. *J Biol Chem* 2011;286:17311–25.

- Zhang P, Zucchelli M, Bruce S, ym. Transcriptome profiling of human pre-implantation development. *PLoS One* 2009;4:e7844.