

MOLECULAR DETAILS ON THE STRUCTURE AND ULTRASTRUCTURE OF GAMETES DURING FERTILIZATION

Cătălina Anca PĂUNA*, Delia HUȚANU

West University of Timisoara, Faculty of Chemistry, Biology, Geography, Department of Biology-Chemistry, Pestalozzi 16, Timișoara

*Corresponding author e-mail: catalina.pauna99@e-uvv.ro

Received 22 June 2022; accepted 30 December 2022

ABSTRACT

The paper presented contains the results of research based on the literature and argues that understanding and identifying the molecular, intimate structure of plasma membranes of gametes at all stages of fertilization is a method to treat cases of failure / deficiency of oocyte activation. Identifying the elements of the structure of the plasma membrane (proteins, enzymes, lipids, glycoproteins, etc.) and explaining their role in the fertilization process can help determine the criteria and requirements for fertility treatment of male and female patients, significantly reducing the number of cycles required for a successful attempt to achieve a pregnancy by assisted reproductive techniques. Routine examination of some of these components using well-studied protocols could be a cost-effective approach that could be applied in In vitro fertilization clinics.

KEYWORDS: plasma membrane of sperm, oocyte plasma membrane, sperm proteins, oocyte proteins

INTRODUCERE

Lucrarea de față prezintă o trecere în revistă a datelor din literatura privind elemente referitoare la ultrastructura membranelor gameților în procesul de fecundație. Reproducerea este procesul prin care organismele dau naștere urmașilor lor. Aceasta este o caracteristică fundamentală a ființelor vii, asigurând perpetuarea speciilor și transmiterea caracteristicilor moștenite către generațiile viitoare. Reproducerea sexuată este cel mai frecvent mod de reproducere, întâlnită la marea majoritate a nevertebratelor și la toate vertebratele. Fecundația reprezintă procesul de contopire a unei celule sexuale (gametii) bărbățești (spermie) cu celula sexuală femeiască (ovocit).

Spermatogeneza este procesul prin care iau naștere spermii. Procesul începe de la pubertate și durează tot restul vieții. Spermia matură – este o celulă alungită care are trei piese componente: cap, gât și coadă. Capul este format aproape exclusiv din nucleu care este purtătorul materialului genetic patern și care este acoperit până la ecuatorul său de *acrozom*. Gâtul – reprezintă regiunea care realizează articulația capului la *piesa intermediară* a

cozii permițând astfel mișcările spermiei. Coada prezintă o *axonemă*, care este formată din microtubuli. Aceasta are trei regiuni: *piesa intermediară*; *piesa principală* și *piesa terminală* de lungime variabilă. Gâtul, împreună cu piesa intermediară și coada reprezintă aparatul motric al spermiei (Checiu, 2000).

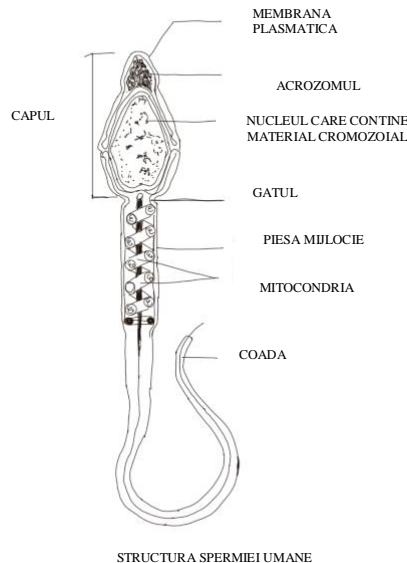


Fig.1 Structura spermiei (<https://alevelbiology.co.uk/gcse/structure-function-of-gametes/>)

Gametul feminin, *ovocitul*, este eliminat prin ovulație la suprafața ovarului de unde este captat de infundibulul trompei uterine. Pe parcursul *ciclului ovarian* se petrec modificări morfologice și structurale în corticala ovarului legate de evoluția foliculilor ovarieni și de procesul de ovulație. Ciclul ovarian se instalează după pubertate iar, punctul de plecare îl reprezintă foliculii primari. Un astfel de folicul primar se caracterizează prin faptul că celulele foliculare sunt cubice, pluristratificate. În timpul proceselor de creștere celulele foliculare din jurul ovocitului sintetizează și secretă diferite glicoproteine. Concomitent, ovocitul sintetizează și eliberează la exteriorul plasmalemei proteoglicani. În acest fel prin cooperarea dintre celulele foliculare și ovocit se constituie, un înveliș semipermeabil, numit *zona pellucida*. Cea mai importantă componentă a zonei pelucida o reprezintă glicoproteinele. 3 dintre aceste glicoproteine, numite ZP1, ZP2 și ZP3 au un rol esențial în recunoașterea dintre ovocit și spermiiile propriei specii, precum și în procesul de fecundație. Datorită glicoproteinei ZP3, după legarea capului

spermiei la zona pelucida a ovocitului se declanșează *reacția acrozomială*. (Checiu, 2000)

În urma căutărilor în bazele de date am selectat articole ce privesc diferite aspecte privind diferite elemente implicate în cele 3 etape ale fecundației: capacitația, reacția acromozomială și fuziunea. (Checiu, 2000)

Elementele membranare ale gameților implicate în etapa de capacitație

Un studiu realizat de Gagandeep Kaur Gahlay & Neha Rajput, din anul 2020, oferă informații despre proteinele din spermii care participă la fecundație și posibilele motive pentru care interacțiunea dintre spermie și ovocit nu este posibilă. Spermii suferă modificări fiziologice specifice, cunoscute colectiv sub numele de capacitație, în tractul reproducător feminin devenind competenți în fertilizare și interacționare cu un ovocit. (Checiu, 2000)

În timpul capacitației, suprafața spermilor pierde anumiți steroli, inclusiv colesterolul și unele glicoproteine, făcând membrana mai fluidă. Acest proces este, de asemenea, marcat de fluxul de ioni de calciu, modificări ale concentrației de bicarbonat și o creștere marcată a fosforilării proteinelor. Odată capacitate, spermii călătoresc de-a lungul tractului reproducător feminin până în trompele uterine, unde are loc fecundația. (Gagandeep & Neha, 2020)

Autorii Gagandeep Kaur Gahlay, Neha Rajput au studiat urmatoarele proteine implicate în etapa de capacitație, a căror absență determina sterilitatea: Proteina asociată cu spermii canalului cationic (CATSPER) este un complex de canal ionic permeabil pentru Ca^{2+} . Polipeptidul alfa nicotinic al receptorului colinergic 7 (CHRNA7) – a cărui activare, crește influxul de Ca^{2+} și induce reacția acrozomială mediată de receptorul factorului de creștere epidermic (EGFR) în spermii. Subunitatea catalitică a proteinei fosfataza 3 gamma (PPP3CC)- se localizează în coada spermilor. CIRITETINA este crucială pentru migrarea spermilor. Proteina care lipsește în proteina transmembranară a spermilor infertili 2 (PMIS2) joacă în principal un rol în migrarea spermilor prin oviduct. Proteaza serină probabilă inactivă 55 (PRSS55) este o serin protează de tip chimotripsină, exprimată în testicul, tubii seminiferi și acrozomul spermilor mature. Ribonucleaza ca proteina 10 (Rnase10) este o proteină epididimală, care este un factor de maturare a spermiei. (Gagandeep & Neha, 2020)

În studiul autorilor Natalia Huerta-Retamal și colab. din anul 2020, s-a evaluat distribuția HSPA2 (proteine de suprafața acilate hidrofili) pe capul spermilor umane ca un potențial biomarker de capacitație. HSPA2 sunt proteine de suprafață acide. Importanța HSPA2 în timpul spermatogenezei și fertilizării este dată de implicarea sa în repararea spermatogenezei și a

leziunilor celulelor germinale în cazurile de varicocel, precum și în menținerea integrității fusului de diviziune în timpul meiozei (Afiyani et al., 2014).

Dintre diferitele proteine responsabile de motilitatea spermilor, ADAM3 pare a fi un jucător cheie a cărui localizare/prezență este reglată de câteva alte proteine. Proteinele spermilor implicate în dispersarea cumulusului ajută la îndepărtarea acestui strat pentru a le permite să pătrundă în zona pelucida (ZP). Deoarece celulele cumulus sunt ținute împreună de acidul hialuronic, hialuronidaza sau o altă enzimă sunt necesare pentru dispersarea lor. SPAM1 și HYAL5 au activitate hialuronidazică (Gagandeep & Neha, 2020)

Elementele membranare ale gameților implicate în etapa acrozomială

Conform studiului „The enigmatic sperm proteins in mammalian fertilization: an overview” subliniem următoarele aspecte referitoare la etapa acrozomială a fecundației: după migrarea sa prin trompele uterine, spermii trebuie să traverseze *cumulus oophorus* înainte de a interacționa cu ovocitul. Celulele cumulusului pot juca, de asemenea, un rol în inducerea reacției acrozomiale la spermii sau în facilitarea procesului, deoarece în prezența cumulusului, un număr mai mare de spermii suferă reacții acrozomiale. Hialuronoglucozaminidaza 5 (HYAL5) este eliberată în timpul reacției acrozomiale și catalizează descompunerea acidului hialuronic în celulele cumulusului. Molecula 1 de adeziune a spermilor (SPAM1) secretă o hialuronidază care ajută spermia să pătrundă prin stratul de celule ale cumulusului bogate în acid hialuronic și este, de asemenea, implicată în legarea spermilor de zona pellucida. Oligozaharidele O-legate acționează ca receptori pentru ovocit și interacționează cu proteina prezentă pe capul spermiei. (Gagandeep & Neha, 2020)

Nivelurile reduse de oligozaharidele O-legate de pe suprafața spermilor induc incapacitatea lor de a se lega de zona pellucida. Proteinele secretorii bogate în cisteină (CRISP): CRISP1 este o proteină epididimală localizată în regiunea dorsală a capului spermilor implicată atât în legarea de zona pellucida cât și în fuziunea membranei ovocitului. CRISP4 este exprimat în celulele epiteliale ale epididimului. Deficiența CRISP4 compromite reacția acrozomială. Dicarbonil L-xiluloză reductază (DCXR) este o proteină epididimală a spermei umane care se acumulează pe suprafața acrozomului în timpul tranzitului epididimal al spermiei. Proteina factorului 8 din grăsimea din lapte-EGF (MFGE8) este secretat de epiteliul epididimal și se leagă de membrana plasmatică a spermiei de șoarece în timpul trecerii sale prin epididim. Sperm fucoziltransferaza 5 (sFUT5) este o proteină responsabilă pentru medierea interacțiunii spermilor cu celulele epiteliale oviductale, care

îmbunătățește capacitatea de fecundație a spermilor prin reducerea daunelor cromatinei la spermii.

Zonadhesin (ZAN) este o proteină mare, prezentă predominant pe regiunea apicală a capului spermilor în membrana exterioară acrozomială și în timpul maturării epididimale este redistribuită către exteriorul matricei acrozomiale și joacă un rol în aderența spermilor cu ZP în timpul reacției acrozomiale. Receptor zona pelucida 3 (SP56) este o proteină de matrice acrozomială implicată în legarea receptorului zona pelucida 3 (ZP3) și recunoașterea gameților specifici specie (Gagandeep & Neha, 2020).

Dupa "Kappa- opioid receptor regulates human sperm functions via SPANX-A/D protein family" din anul 2020, receptorii mu-, delta- și kappa-opioizi (MOR, DOR și respectiv KOR) sunt exprimați în spermatozoamele umane și modulează capacitatea de a fecunda spermia umană. Kappa-opioid este exprimat în capul, piesa mediană și flagelul spermilor umane. Familia de proteine SPANX-A/D (Sperm Protein Associated with the Nucleus mapat la cromozomul X) este o familie de multigene specifice testiculelor, cartografiată pe cromozomul X a cărei expresie este limitată la gameți masculini. Este exprimată în timpul spermatogenezei și este localizat în acrozom, piesa mediană, nucleul și coada spermilor umane. Din punct de vedere clinic, o expresie ridicată a SPANX-A/D în spermile umane este legată de ratele ridicate de sarcină. (Gagandeep & Neha, 2020)

Elementele membranare ale gameților implicate în etapa de fuziune

După traversarea cumulusului și a zonei pellucida, penultimul pas înainte ca ADN-ul din spermii și ovocit să se combine este aderența și fuziunea membranei plasmatică a spermilor cu cea a ovocitului. Toate aceste proteine sunt prezente la segmentul ecuatorial al spermilor, conluzând cu observația făcută prin microscopie electronică că segmentul ecuatorial inițiază fuziunea spermie-ovocit. (Gagandeep & Neha, 2020)

Se știe că trei factori sunt esențiali pentru adeziunea/fuziunea *gameților* (*Cd9*, *Izumo1* și *Juno*). SPACA6 care este exprimat de spermatozoamele umane, rămâne pe segmentul ecuatorial după reacția acrozomială și este implicat în fecundație. Dintre receptorii moleculari de membrană implicați în adeziunea/fuziunea gameților la mamifere, doar trei, imunoglobulina spermatică IZUMO1, proteina ancorată la glicozilfosfatidilinozitol (GPI-AP) JUNO, receptorul său ovocitar și tetraspanina ovocitară CD9 sunt descrise ca fiind esențiale. Legarea și fuziunea spermilor au loc în principal în regiunea ovocitară bogată în microvilozități, subliniind importanța acestora pentru fuziunea spermie-ovocit. CD9 orchestrează

complexul molecular de adeziune pe partea ovocitului. (Gagandeep & Neha, 2020)

Regiunea N-terminală IZUMO1 este importantă pentru legarea sa de membrana ovocitului și, conform lui Inoue și *colab.*, IZUMO1 este monomer în spermii și favorizează adeziunea spermilor cu un ovocit. Într-adevăr, ei au dezvăluit că mișcarea oscilatorie a capului spermilor pe membrana plasmatică a ovocitelor, este un element crucial al fazei de adeziune pentru a iniția fuziunea și că aceste oscilații specifice spermilor induc, de asemenea, creșterea concentrației CD9 la nivelul interfeței ovocit/spermie. (Gagandeep & Neha, 2020)

SPACA6 de pe spermii umane, la fel ca IZUMO1, se relocalizează în timpul reacției acrozomiale. SPACA6 este, de asemenea, localizat în regiunea ecuatorială, gât și piesa mediană. După reacția acrozomială, SPACA6 a rămas în esență la nivelul segmentului ecuatorial și pare a fi o proteină de membrană acrosomalproteinază. SPACA6 uman este exprimat exclusiv în testicul. SPACA6 nu este localizat pe membrana plasmatică a spermilor proaspete, ci este ascuns sub membrana plasmatică și accesibil doar după reacția acrozomială. Conform studiilor SPACA6 nu pare să inducă aderența, acest lucru indică faptul că cel mai probabil este necesar un alt factor molecular esențial, concomitent cu IZUMO1 și SPACA6 necesar etapei de fuziune. (Gagandeep & Neha, 2020)

Conform studiului efectuat de Gagandeep Kaur Gahlay și Neha Rajput din 2020, următorii factori au fost identificați în etapa de fuziune spermie-ovocit: ADAM3, CRISP1, IZUMO1, SPACA6. (Gagandeep & Neha, 2020)

În studiul realizat de Niringiyumukiza JD, Cai H, Xiang W. din anul 2018 s-a demonstrat că prostaglandina E2 (PGE2) joacă un rol relevant în cascada ovulatorie, incluzând maturarea meiotică, expansiunea cumulusului și ruptura foliculului. PGE2 reduce vâscozitatea matricei extracelulare și, prin urmare, optimizează condițiile de penetrare a spermilor. PGE2 reduce activitatea fagocitară a neutrofilelor polimorfonucleare (PMN) împotriva spermilor. În prezența PGE2, funcția spermilor și capacitatea de legare la ovocite sunt îmbunătățite. PGE2 menține funcția luteală pentru dezvoltarea embrionului și implantarea timpurie. În plus, induce expresia chemokinelor pentru depunerea trofoblastului și aderența la decidua pentru implantare. S-a demonstrat că PGE2 afectează pozitiv diferitele etape ale fertilității feminine. Prin urmare, PGE2 ar trebui luat în considerare atunci când se optimizează reproducerea la femelele infertile. (Gagandeep & Neha, 2020)

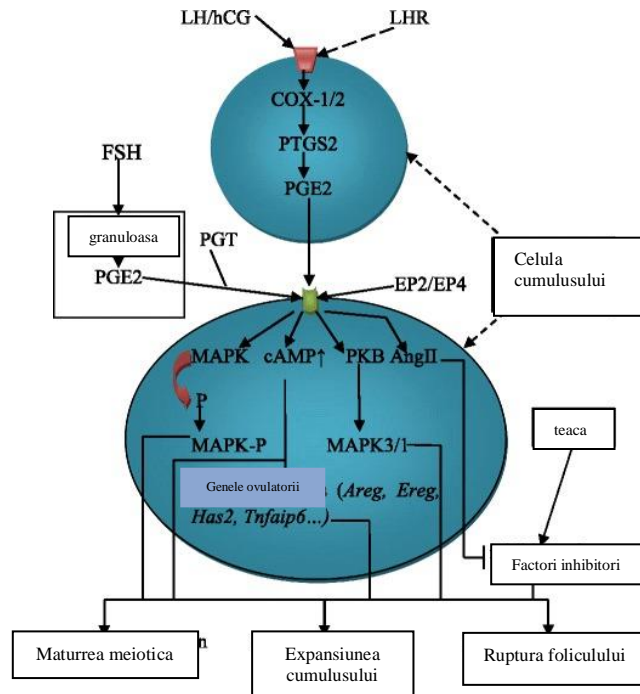


Fig. 2. Cascada ovulatorie. LH/hCG induce sinteza și secreția PGE2 în celulele cumulusului

La contactul dintre spermie și membrana ovocitului are loc activarea ovocitului. Mecanismul activării implică apariția unei depolarizări la nivelul membranei ovocitului prin activitatea canalelor de K^+ - canal al cărui funcționalitate depinde de ionii de Ca^{2+} . Prin activare se reinițiază meioza și este Ca^{2+} dependența fiind declanșată de contactul cu spermia. Doar ovocitele activate se vor fecunda. (Saunders et al., 2002; Nomikos, 2015).

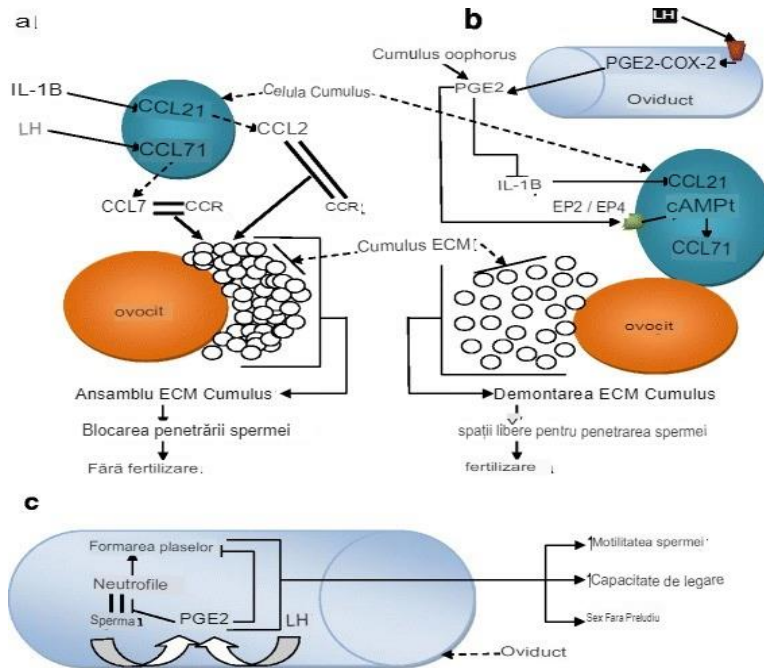


Fig. 3. PGE2 în procesul de fertilizare.

a. PGE2 inhibă activitatea fagocitară a PMN-urilor împotriva spermilor; b. La ovulație, există un nivel crescut de PGE2 secretat de celulele epiteliale ale oviductului și de cumulus oophorus; c. În oviduct, legarea spermilor de celulele epiteliale, precum și stimularea LH, induc secreția de PGE2. PGE2 eliberat inhibă legarea neutrofilelor de spermie. Spermii în prezența PGE2 au o mobilitate crescută, supraviețuire și capacitatea de legare la ovocit (Gagandeep & Neha, 2020)

Studiul efectuat de Stricker, 1999; Malcuit *et al.*, 2006; Kashir *et al.* (2013a) precizează că cel mai important eveniment al activării ovocitelor este o creștere acută a concentrațiilor de Ca^{2+} liber citosolic, care are loc sub formă de oscilații începând direct după fuziunea gameților și persistând dincolo de finalizarea meiotică.

Eliberarea de Ca^{2+} este o componentă integrală a activării ovocitelor la toate speciile studiate până în prezent (Cran *et al.*, 1988; Swann & Ozil, 1994; Jones, 1998; Nomikos *et al.*, 2012; Limatola *et al.*, 2019b).

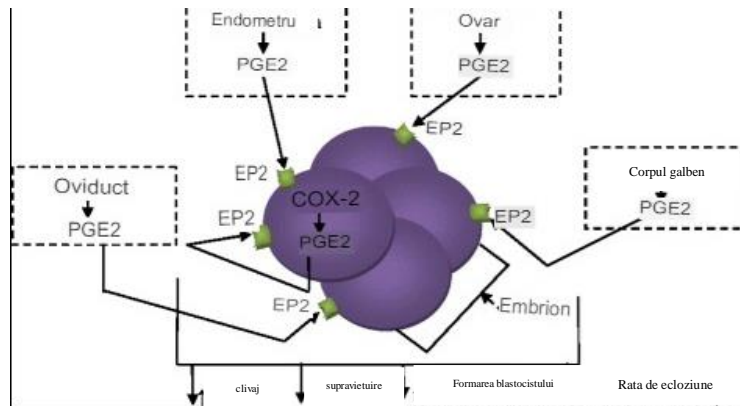


Fig. 4. Rolul PGE2 în dezvoltarea embrionului. PGE2 este secretată de embrion, de la embrionul cu 2 celule până la stadiul de blastocist. Nivelul de PGE2 crește treptat în până la implantarea embrionului. PGE2 secretat de embrion, ovar, corp galben, oviduct și endometru stimulează segmentarea, supraviețuirea și formarea blastocistului și ratele de ecloziune în cavitatea intrauterină (Gagandeep & Neha, 2020)

Fosfolipaza C zeta (PLC ζ) specifică spermilor este considerată stimulul fiziologic responsabil pentru generarea oscilațiilor de calciu (Ca^{2+}) care induc activarea ovocitelor și dezvoltarea embrionară timpurie.

La fuziunea spermie-ovocit, se presupune că PLC ζ este eliberat de spermii în ooplasmă, declanșând oscilațiile Ca^{2+} prin calea de semnalizare $InsP_3$ prin hidroliza substratului fosfolipidic legat de membrană, PIP 2 (Saunders et al., 2002; Nomikos, 2015).

Importanța acestei proteine specifice spermilor în fecundația la mamifere a fost evidențiată în continuare de numeroase studii clinice care leagă direct defecte sau deficiențe ale PLC ζ uman cu cazuri documentate de infertilitate a factorului masculin (Yoonb et al., 2008; Heytens et al., 2009; Nomikos & et al. 2011a, 2017b; et al., 2012b,c; Escoffier et al., 2016; Torra-Massana et al., 2019).

PLC ζ a fost identificat în spermiiile diferitelor specii de mamifere și, de obicei, tinde să fie găsit în capul spermilor în regiuni subcelulare distincte, postulând roluri funcționale diferențiate pentru fiecare populație (Kashir & et al., 2014, 2018). PLC ζ a fost identificat în compartimentele acrozomial și post-acrozomial, acrozomial și ecuatorial și post-acrozomial și ecuatorial ale spermilor de șoarece, umane și, respectiv, porcine. În plus, s-a observat în mod constant și o potențială localizare la nivelul cozii la toate speciile (Kashir et al., 2017)

Studiile efectuate pe soareci au arătat că spermii lipsite de proteina PLC ζ funcțională nu au reușit să inducă eliberarea de Ca²⁺. Ambele studii susțin ideea că PLC ζ este stimulul fiziologic primar care declanșează modelul specific necesar de oscilații Ca²⁺, asigurând fecundația monospermică și, în cele din urmă, activarea cu succes a ovocitului și dezvoltarea embrionară timpurie (Hachem & et al., 2017 ; & et al. 2018; Swann, 2018).

Concluzia articolului "Essential Role of Sperm-Specific PLC-Zeta in Egg Activation and Male Factor Infertility: An Update" indică faptul că absența sau defectele proteinei PLC ζ sunt suficiente pentru a preveni activarea ovocitului uman de către spermaie, sugerând că PLC ζ este esențială la om, activarea ovocitelor și astfel fecundația umană; mutațiile dăunătoare ale PLC ζ pot fi mai răspândite decât se credea anterior, afectând membrana și/sau legarea de substrat, sensibilitatea sa la Ca²⁺, precum și activitatea sa enzimatică. (Hachem et al., 2017 ; Swann, 2018).

Injectarea de niveluri crescute de PLC ζ în ovocitele umane are ca rezultat creșterea frecvenței și amplitudinii oscilațiilor Ca²⁺ (Yamaguchi et al., 2017). Mai mult, s-a demonstrat că frecvența și amplitudinea oscilațiilor Ca²⁺ joacă un rol important în compactare și formarea blastocistului (Swann & Ozil, 1994 ; Miyazaki & Ito, 2006).

Oscilațiile de Ca²⁺ induse de PLC ζ pot fi necesare nu numai pentru activarea ovocitelor, dar pot fi la fel de importante pentru embriogeneza ulterioară. Astfel, anomaliile nivelurilor PLC ζ ale spermiiilor pot sta la baza nu numai infertilității prin eșecul fecundației, ci și cazurilor de subfertilitate masculine. (Swann & Ozil, 1994 ; Miyazaki & Ito, 2006).

CONCLUZII

Lucrarea prezentată conține rezultatele cercetarilor ce au la baza literatura de specialitate și susține că înțelegerea și identificarea structurii membranelor plasmactice ale gameților în toate etapele fecundației reprezintă o metodă pentru a trata cazurile de eșec/ deficiență de activare a oului.

Identificarea elementelor ce intra în structura membranei plasmactice (proteine, enzime, lipide, glicoproteine, etc.) și a rolului pe care îl dețin în procesul de fecundație pot ajuta la determinarea criteriilor și cerințelor tratamentului de fertilitate al pacienților de sex masculin, scăzând semnificativ numărul de cicluri necesare pentru ca o sarcină de succes să aibă loc. Examinarea de rutina a unora din aceste componente folosind protocoale bine studiate, ar putea fi o abordare rentabilă, care s-ar putea aplica în clinicile de fertilizare in vitro.

RESURSE BIBLIOGRAFICE

- Amdani S. N., Jones C., Coward K., 2013, Phospholipase C zeta (PLCzeta): oocyte activation and clinical links to male factor infertility. *Adv. Biol. Regul.* 53, 292–308
- Barbaux S, Ialy-Radio C, Chalbi M, Dybal E, Homps-Legrand M, Do Cruzeiro M, Vaiman D, Wolf JP, Ziyat A., 2020, Sperm SPACA6 protein is required for mammalian Sperm-Egg Adhesion/Fusion. *Sci Rep.*;10(1):5335.
- Checiu. I. 2000. Embriologie, Ed. Mirton, Timisoara.
- Cran D. G., Moor R. M., Irvine R. F., 1988, Initiation of the cortical reaction in hamster and sheep oocytes in response to inositol trisphosphate. *J. Cell Sci.* 91 (1) , 139–144.
- Gagandeep K. G., Neha R., 2020, The enigmatic sperm proteins in mammalian fertilization: an overview, *Biology of Reproduction*, 103(6), , 1171–1185
- Huerta-Retamal N., Sáez-Espinosa P., Robles-Gómez L., Avilés M., Alejandro R., Aizpurua J., Gómez-Torres M. J. ,2021, Human sperm chaperone HSPA2 distribution during in vitro capacitation, *Journal of Reproductive Immunology*, 143, 103246, 0165-0378
- Jones K. T., 1998, Ca²⁺ oscillations in the activation of the egg and development of the embryo in mammals. *Int. J. Dev. Biol.* 42, 1–10.
- Kashir J., Buntwal L., Nomikos M., Calver B. L., Stamatiadis P., Ashley P., et al., 2017, Antigen unmasking enhances visualization efficacy of the oocyte activation factor, phospholipase C zeta, in mammalian sperm. *Mol. Hum. Reprod.* 23, 54–67.
- Kashir J., Deguchi R., Jones C., Coward K., Stricker S. A., 2013a, Comparative biology of sperm factors and fertilization-induced calcium signals across the animal kingdom. *Mol. Reprod. Dev.* 80, 787–815
- Kashir J., Konstantinidis M., Jones C., Lemmon B., Lee H. C., Hamer R., et al., 2012c, A maternally inherited autosomal point mutation in human phospholipase C zeta (PLCzeta) leads to male infertility. *Hum. Reprod.* 27, 222–231
- Kashir J., Konstantinidis M., Jones C., Heindryckx B., De Sutter P., Parrington J., et al. , 2012b, Characterization of two heterozygous mutations of the oocyte activation factor phospholipase C zeta (PLCzeta) from an infertile man by use of minisequencing of individual sperm and expression in somatic cells. *Fertil. Steril.* 98, 423–431.
- Kashir J., Nomikos M., Lai F. A., 2018, Phospholipase C zeta and calcium oscillations at fertilisation: the evidence, applications, and further questions. *Adv. Biol. Regul.* 67, 148–162
- Kashir J., Nomikos M., Lai F. A., Swann K., 2014, Sperm-induced Ca²⁺ release during egg activation in mammals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 450, 1204–1211
- Malcuit C., Kurokawa M., Fissore R. A., 2006, Calcium oscillations and mammalian egg activation. *J. Cell Physiol.* 206, 565–573.
- Miyazaki S., Ito M., 2006, Calcium signals for egg activation in mammals. *J. Pharmacol. Sci.* 100, 545–552.
- Niringiyumukiza JD, Cai H, Xiang W., 2018, Prostaglandin E2 involvement in mammalian female fertility: ovulation, fertilization, embryo development and early implantation. *Reprod Biol Endocrinol.*;16(1):43
- Nomikos M., 2015, Novel signalling mechanism and clinical applications of sperm-specific PLCzeta. *Biochem. Soc. Trans.* 43, 371–376.
- Nomikos M., Elgmati K., Theodoridou M., Calver B. L., Cumbes B., Nounesis G., et al., 2011a, Male infertility-linked point mutation disrupts the Ca²⁺ oscillation-inducing and PIP(2) hydrolysis activity of sperm PLCzeta. *Biochem. J.* 434, 211–217.
- Nomikos M., Stamatiadis P., Sanders J. R., Beck K., Calver B. L., Buntwal L., et al., 2017b, Male infertility-linked point mutation reveals a vital binding role for the C2 domain of sperm PLCzeta. *Biochem. J.* 474, 1003–1016

- Nomikos M., Swann K., Lai F. A., 2012, Starting a new life: sperm PLC-zeta mobilizes the Ca²⁺ signal that induces egg activation and embryo development: an essential phospholipase C with implications for male infertility. *Bioessays* 34, 126–134
- Nozawa K., Satouh Y., Fujimoto T., Oji A., Ikawa M., 2018, Sperm-borne phospholipase C zeta-1 ensures monospermic fertilization in mice. *Sci. Rep.* 8, 1315
- Saleh A., Kashir J., Thanassoulas A., Safieh-Garabedian B., Anthony L. F., Nomikos M., 2020, Essential Role of Sperm-Specific PLC-Zeta in Egg Activation and Male Factor Infertility: An Update, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8
- Stricker S. A., 1999, Comparative biology of calcium signaling during fertilization and egg activation in animals. *Dev. Biol.* 211, 157–176
- Swann K., Ozil J. P., 1994, Dynamics of the calcium signal that triggers mammalian egg activation. *Int. Rev. Cytol.* 152, 183–222.
- Swann K., 2018, The role of Ca²⁺ in oocyte activation during in vitro fertilization: insights into potential therapies for rescuing failed fertilization. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* 1865(11, B), 1830–1837.
- Torra-Massana M., Cornet-Bartolome D., Barragan M., Durban M., Ferrer-Vaquer A., Zambelli F., et al., 2019, Novel phospholipase C zeta 1 mutations associated with fertilization failures after ICSI. *Hum. Reprod.* 34, 1494–1504