

Andrologie

Soňa Kloudová

sona.kloudova@med.muni.cz

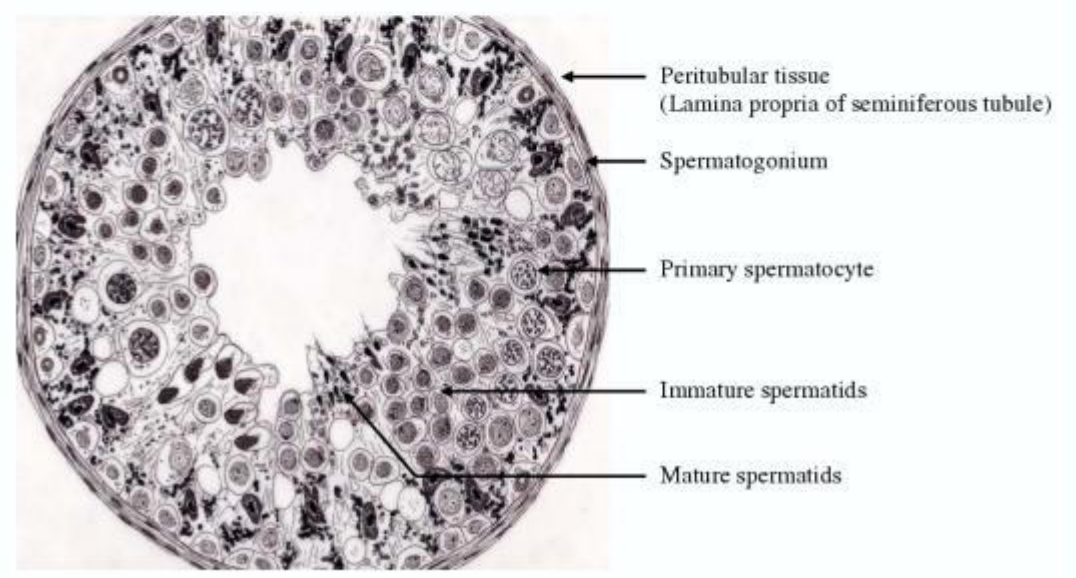
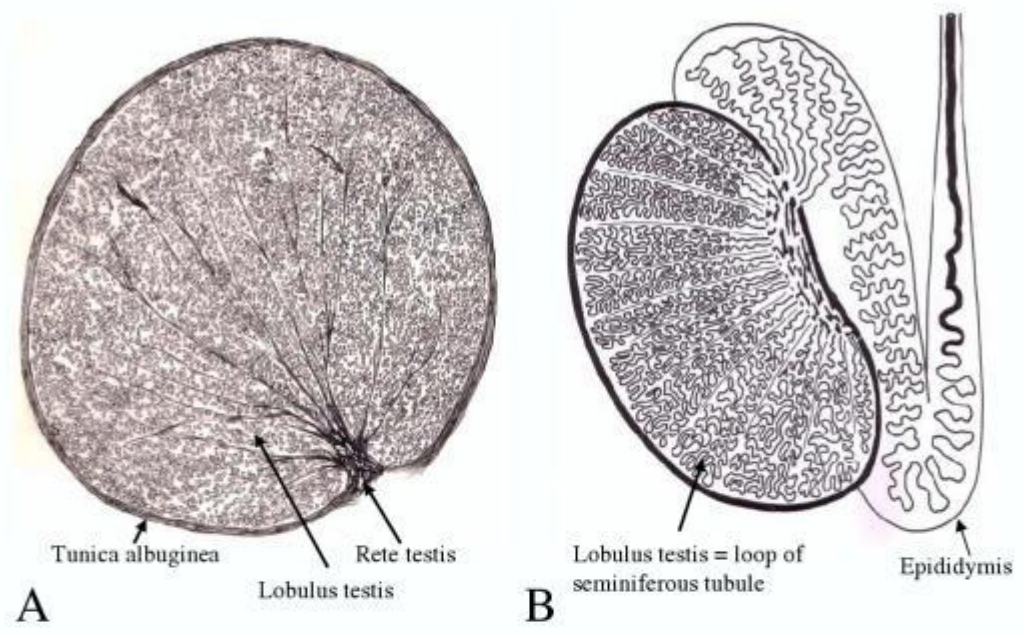
26.2.2024

Vývoj spermií

- Spermie jsou produkovány **od puberty do konce života**, nicméně počet a kvalita spermií s věkem mírně klesají
- Při selekci nejlepších gamet dochází k velkému plýtvání
- Každý muž denně produkuje milióny spermií (1000/s), do místa fertilizace se jich však dostává pouze zlomek
- Selekcce u spermií – na úrovni **kontrolních bodů buněčného cyklu a apoptózy** probíhá selekcce geneticky či jinak abnormálních spermií
 - selekcce podle funkční kvality spermií v pohlavním traktu ženy

Spermatogeneze

- Komplexní biologický proces tvorby haploidních zárodečných buněk z diploidních spermatogoniálních kmenových buněk (spermatogonií)
- **Gonadotropin dependentní** mechanismus
- Hlavní funkcí procesu spermatogeneze je zajistit denní přísun plně diferencovaných spermií (více než 200 miliónu u člověka, 2-3 biliony u býka)
- Varle je tvořeno intersticiem a semenotvornými kanálky (95% objemu varlete)
- Vlastní proces spermatogeneze probíhá v semenotvorných kanálcích
- Spermatogeneze člověka trvá **přibližně 74 dnů**



C

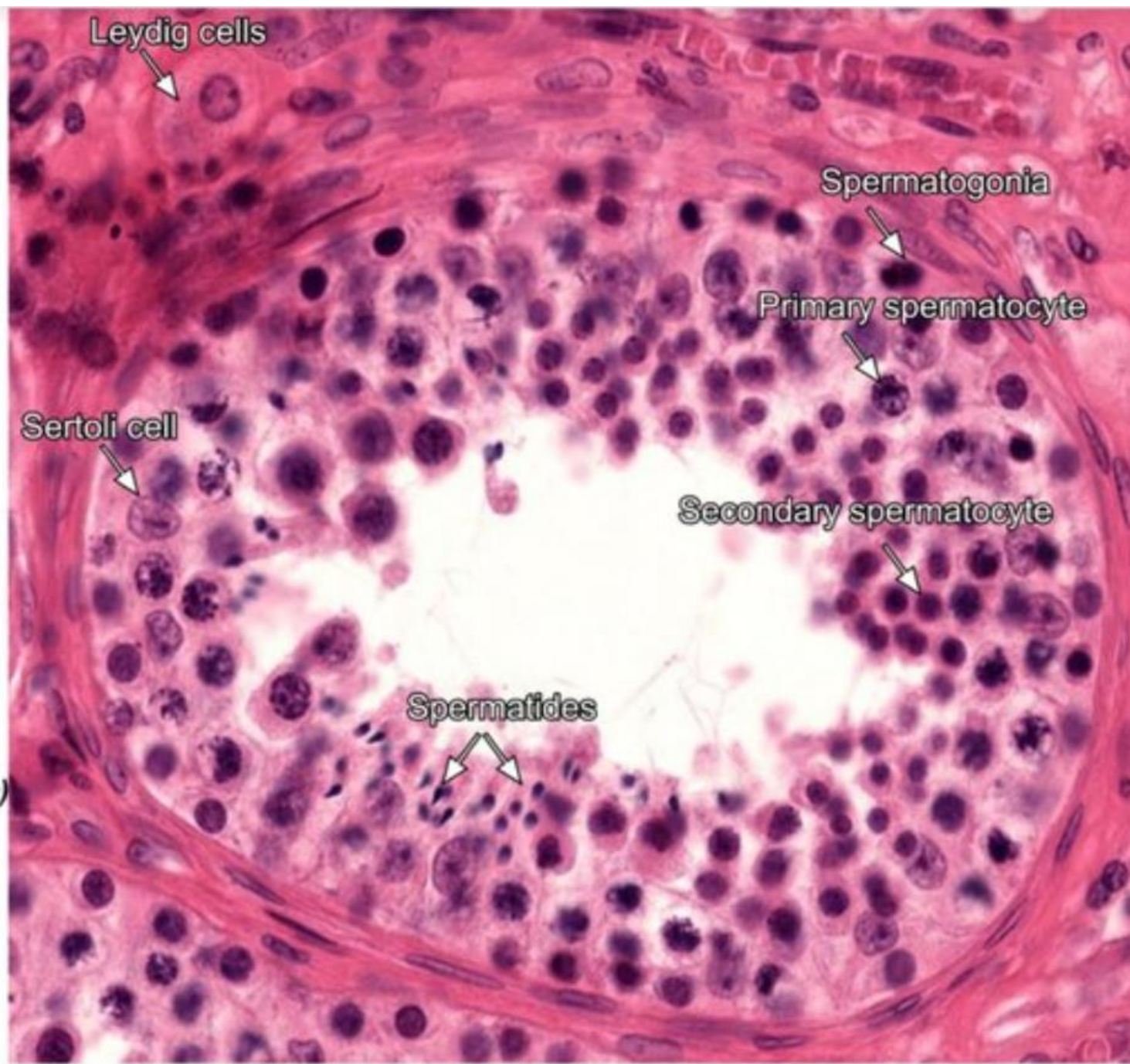
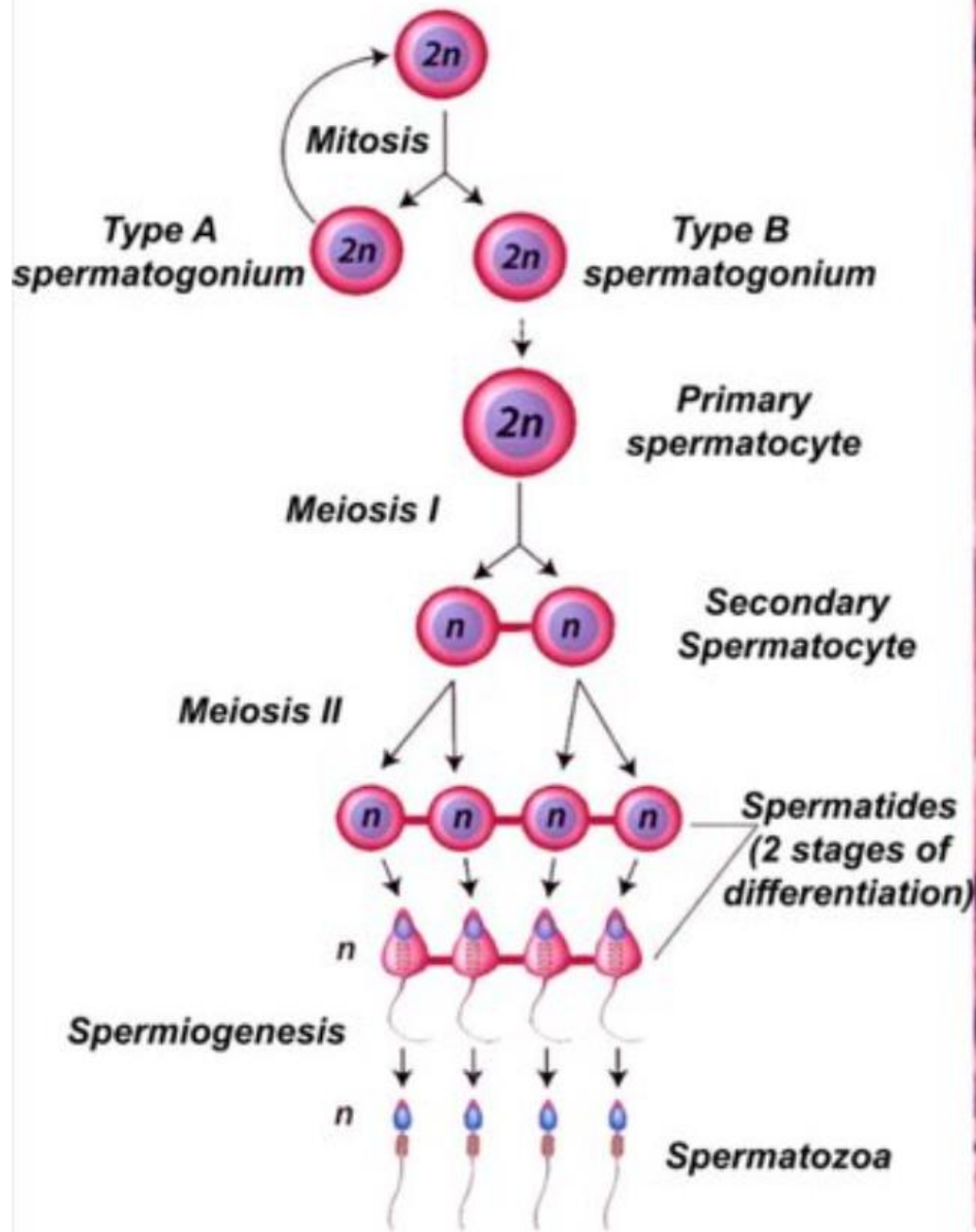
[Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment - PMC \(nih.gov\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1122222/)

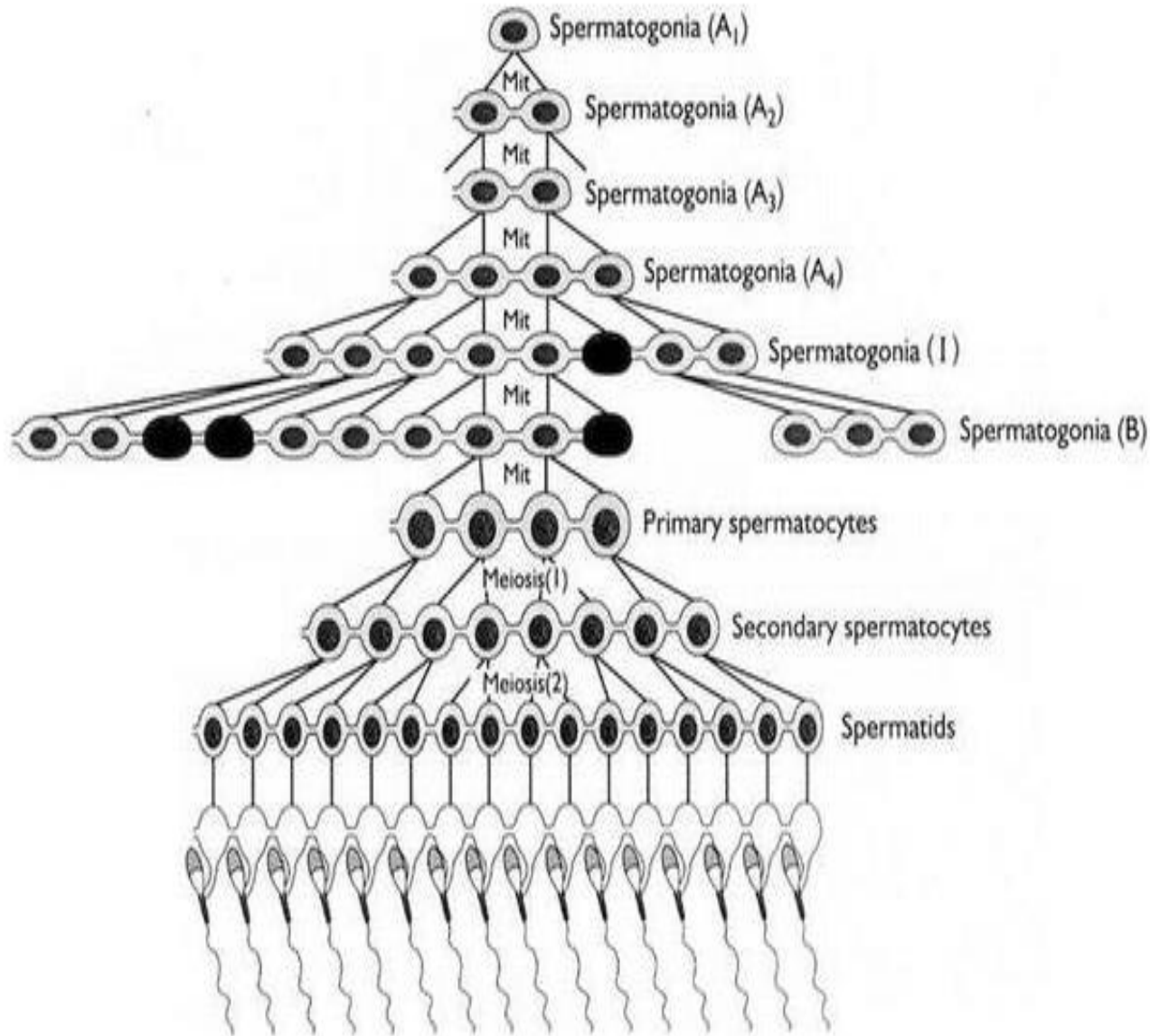
- **Gonocyty**-primordiální zárodečné buňky- v průběhu embryonálního vývoje osídlují základy pohlavní žlázy → diferenciaci ve **spermatogonii A** (kmenová buňka spermatogonií)
- Zárodečné buňky zůstávají v klidovém stavu až do narození, kdy proliferují a vstoupí do semenotvorných kanálků
- U novorozenců (savců) se ve varlatech nacházejí Sertoliho buňky, spermatogonie a preleptotenní spermatocyty, pokročilejší stádia vývojové řady spermií nacházíme až v období puberty a dospělosti

Spermatogeneze má **tři fáze**:

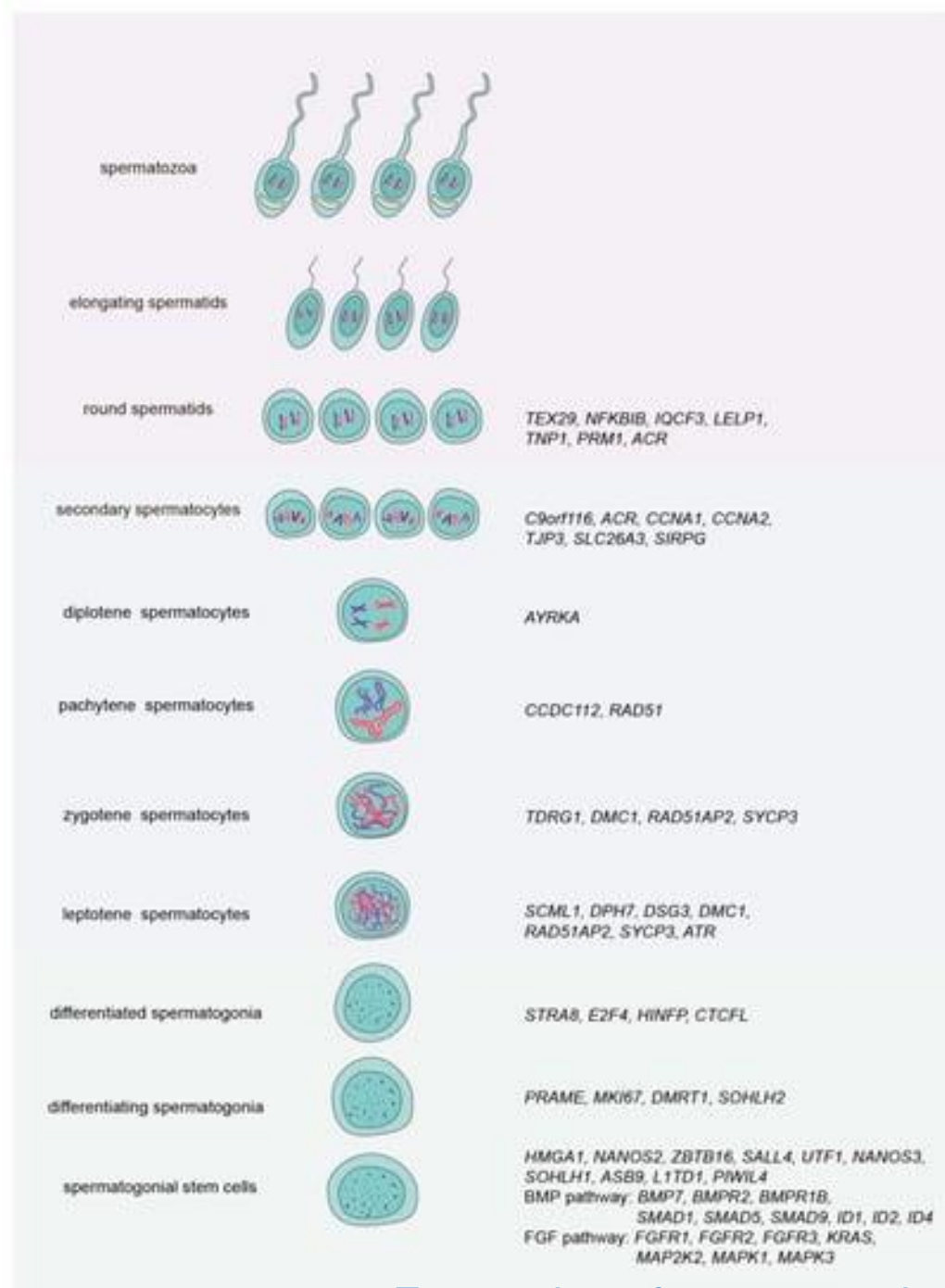
- Zárodečné buňky (spermatogonie, $2n$) se nejdříve opakovaně **mitoticky dělí**; vznikají jednak tmavé spermatogonie a jednak světlé spermatogonie, které dávají vznik spermatocytům I řádu (preleptotenní stádium); u člověka je třeba asi 4 generací spermatogonií, aby vznikl preleptotenní spermatocyt
- Následuje **meióza** (duplikace chromozomů, genetická rekombinace, redukce chromozomů ; ze spermatocytů prvního řádu vznikají 2 spermatocyty II řádu ($2n$, meióza I) a později druhým meiotickým dělením vznikají haploidní spermatidy
- V konečné fázi dochází **ke spermiogenesi**- transformace sférické haploidní spermatidy do vysoce specializované zralé spermie a následná spermiace (uvolnění do lumen kanálku)
- Vysoká produkce spermií si vyžaduje jedinečnou dobře organizovanou strukturu semenotvorných kanálků- sebeobnovující systém, dobře izolovaný od krve za současného příjmu jen vybraných parakrinních faktorů
- **Semenotvorný epitel**: zárodečné buňky tvořící několik vrstev různých stádií diferenciaci ve spermii od obvodu směrem k lumen kanálku, Sertoliho buňky

- Spermatogonie jsou stále ve styku s bazální membránou
- Dělením tmavých **spermatogonií A** vznikají další **tmavé spermatogonie A** a světlé spermatogonie A
- Dalším **mitotickým dělením světlých spermatogonií A** vznikají **spermatogonie B**, které dalším dělením dávají vznik **spermatocytům prvního řádu**
- **Spermatocyty I** řádu již nejsou v kontaktu s bazální membránou
- Spermatocyty I řádu **vstupují do meiózy** a během profáze se stávají **největšími buňkami semenotvorného epitelu** (profáze trvá 24 dnů); následně vzniknou dva malé **spermatocyty II** řádu, které existují jen **velmi krátce** a vstupují do druhého meiotického dělení → **spermatidy**
- Spermatidy jsou nejmenší buňky semenotvorného epitelu, složitým procesem diferencují ve spermie





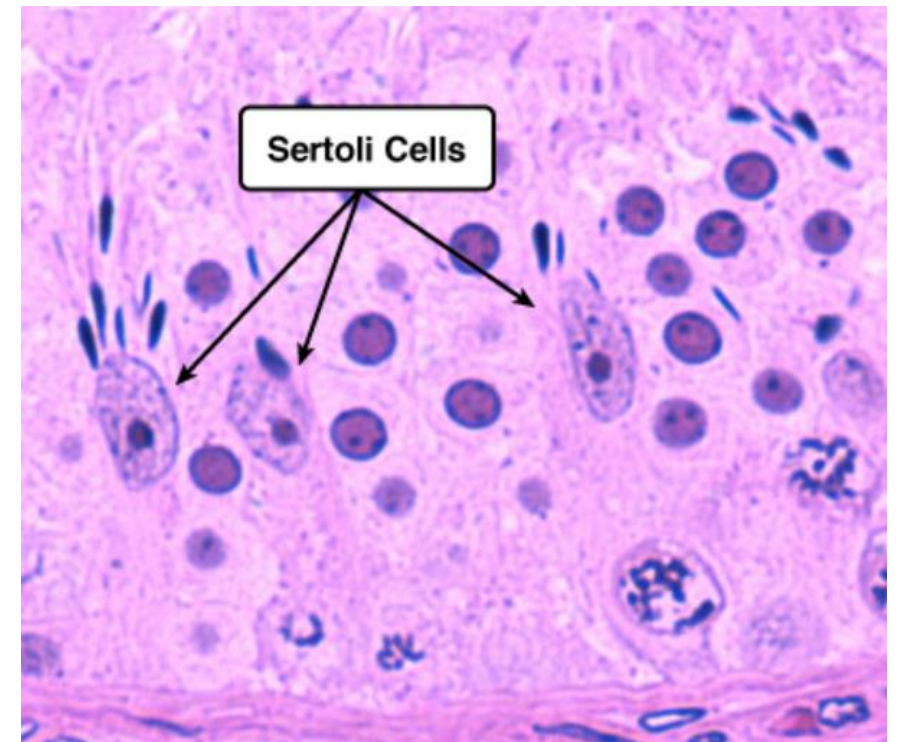
- Preleptotenní spermatocyty podstupují asi 16ti denní první meiotické dělení (profáze trvá asi 24 dnů), zbytek I. meiotického dělení a celé II. meiotické dělení proběhne za méně než 3 dny
- Proces spermiogeneze trvá asi 26 dnů
- Délka celé spermatogeneze trvá 74 dnů
- dalších 12 dnů spermie cestují nadvarletem
- Cyklus od spermatogonie po zralou spermii tedy trvá celkem 86 dnů



Expression of new genes in human spermatogenesis (Du et al.,2021)

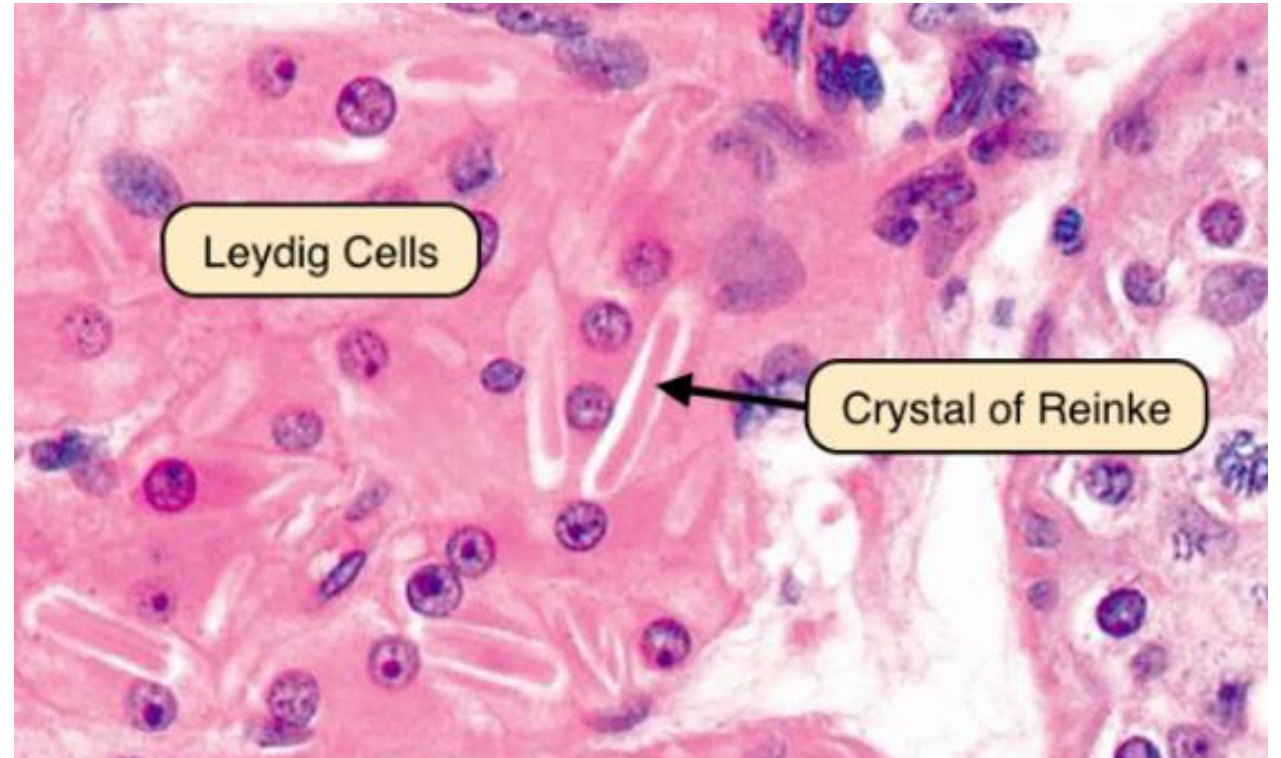
Sertoliho buňky

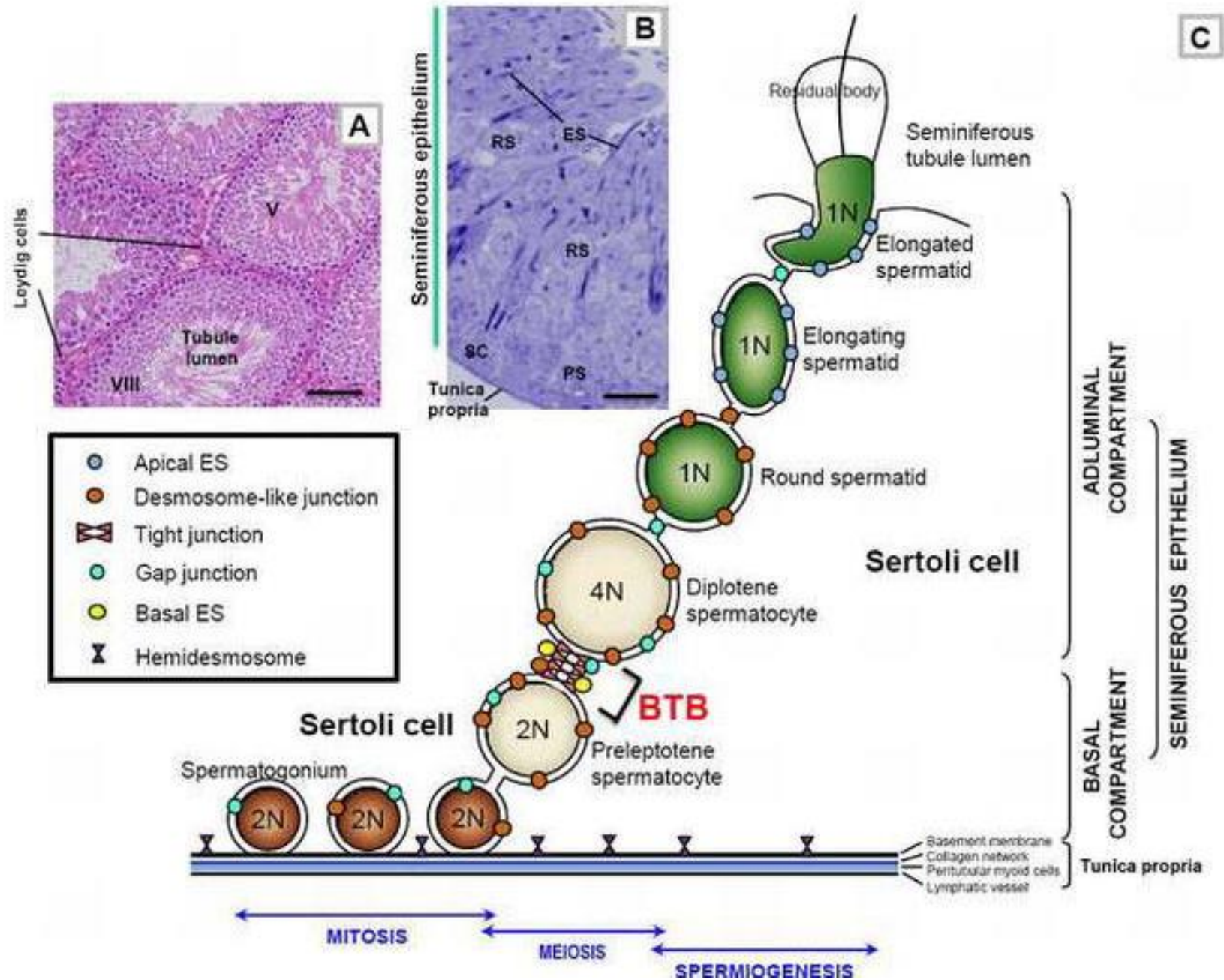
- nepravidelný sloupcovitý tvar (**pyramidovitý**), dosahují od bazální laminy do lumen kanálků
- **17-20%** semenotvorného epitelu
- Jádro je snadno rozpoznatelné díky **výraznému jadérku**
- **Podpora a výživa** vyvíjejících se zárodečných buněk, **kompartmentalizace**-těsné spoje, hematotestikulární bariéra
- Hrají významnou roli v **udržování sebeobnovy kmenových spermatogonií**, podílejí se i na regulaci správného poměru sebeobnovy zárodečných buněk a apoptózy
- **Kontrolované uvolňování** maturovaných spermatid
- **Sekretční funkce** – proteiny a růstové faktory
- fagocytóza



Leydigovy buňky

- Polygonálního tvaru, jádro s jedním až třemi výraznými jadérky
- Reinkeho krystaly –cytoplasmatické inkluze, žlutohnědý lipofuscin
- Hlavním typem buněk intersticia varlete
- Diferenciace postnatálně, klidový stav až do puberty
- Často v blízkosti cév nebo semenotvorných kanálků
- Hlavní zdroj testosteronu



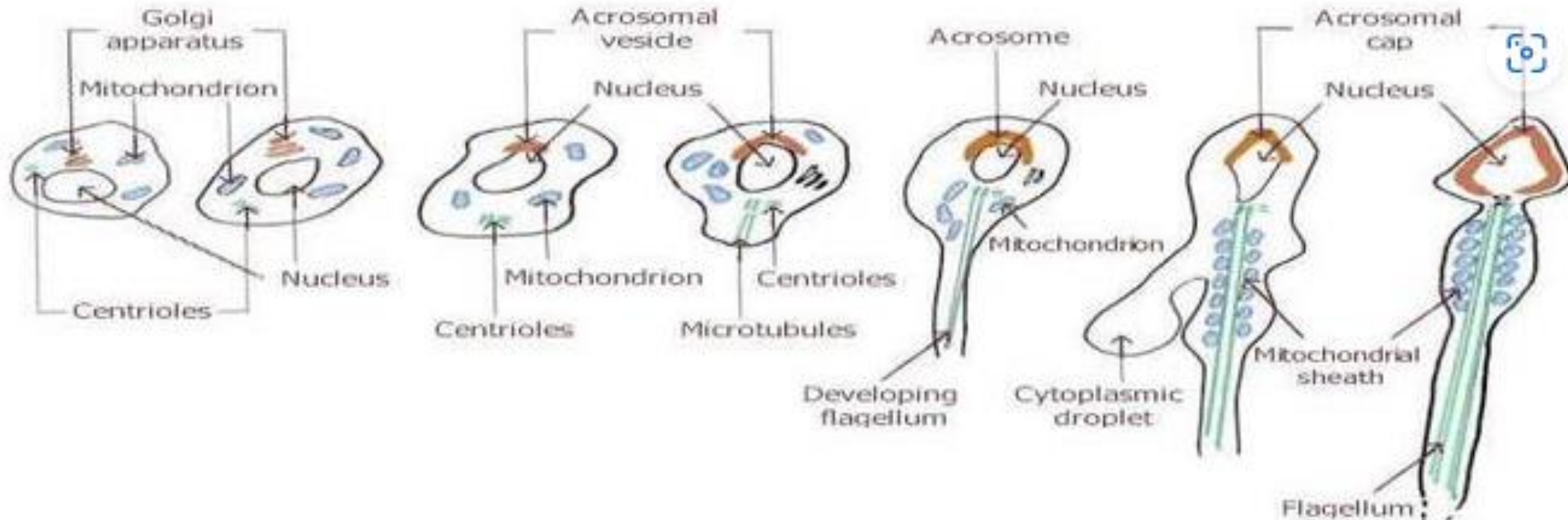


Spermiogenese

- Konečná fáze spermatogeneze, během které se ze spermatid vyvinou zralé spermie.
- V průběhu procesu spermiogenese zůstávají zárodečné buňky **propojeny buněčnými spoji se Sertoliho buňkami** a vzájemně pak cytoplazmatickými můstky
- Dochází ke komplexní **přeměně haploidní buňky, podobající se běžné somatické buňce ve vysoce specializovanou buňku**, schopnou pohybu a fertilizace oocytu
- Spermatidy (kulaté buňky obsahující jádro, GA, centriolu a mitochondrie) získávají **typický tvar a funkce spermií** (podlouhlé buňky s hlavou, střední částí a bičíkem)
- Dochází ke stavbě nových organel a k degradaci některých původních
- **Jádro je remodelováno**: dochází ke zmenšení objemu, nabytí aerodynamického tvaru a k protaminaci (ochrana DNA před poškozením), tento proces je spojen s vysokou transkripční a translační aktivitou
- **Golgiho komplex splývá v akrosomální váček**, dochází ke splynutí cytosolu spermatidy a ke vzniku skeletonu hlavičky, tvoří se axonema bičíku, chromosomy se vysoce kondenzují
- **Akrosomální váček se přetahuje přes přední okraj jádra** a vzniká finální akrosom (hyaluronidáza, akrozin), pomocí mitochondriální manžety dochází k protažení jádra

- **Centrosom spermatidy:** proximální centriol se usadí v prohloubení jádra, z distálního centriolu se vytváří bazální tělísko bičíku
- bičík obsahuje devět vnějších dvojic mikrotubulů a dva centrální mikrolubuly
- Mitochondrie se přesunuly do proximální části bičíku a tvoří zde **mitochondriální spirálu-střední oddíl spermie**
- Zbylá cytoplazma je fagocytována Sertoliho buňkami

- **Spermiace** – proces, kdy dochází k vzájemnému oddělení plně diferencovaných spermatozoí a k jejich uvolnění z povrchu semenotvorného epitelu do lumen kanálku
- **Cytoplazmatická kapénka** – lalůček se zbytkem cytoplasmy opouštějící zbytek buňky, obtočený kolem mísa spoje bičíku s hlavičkou

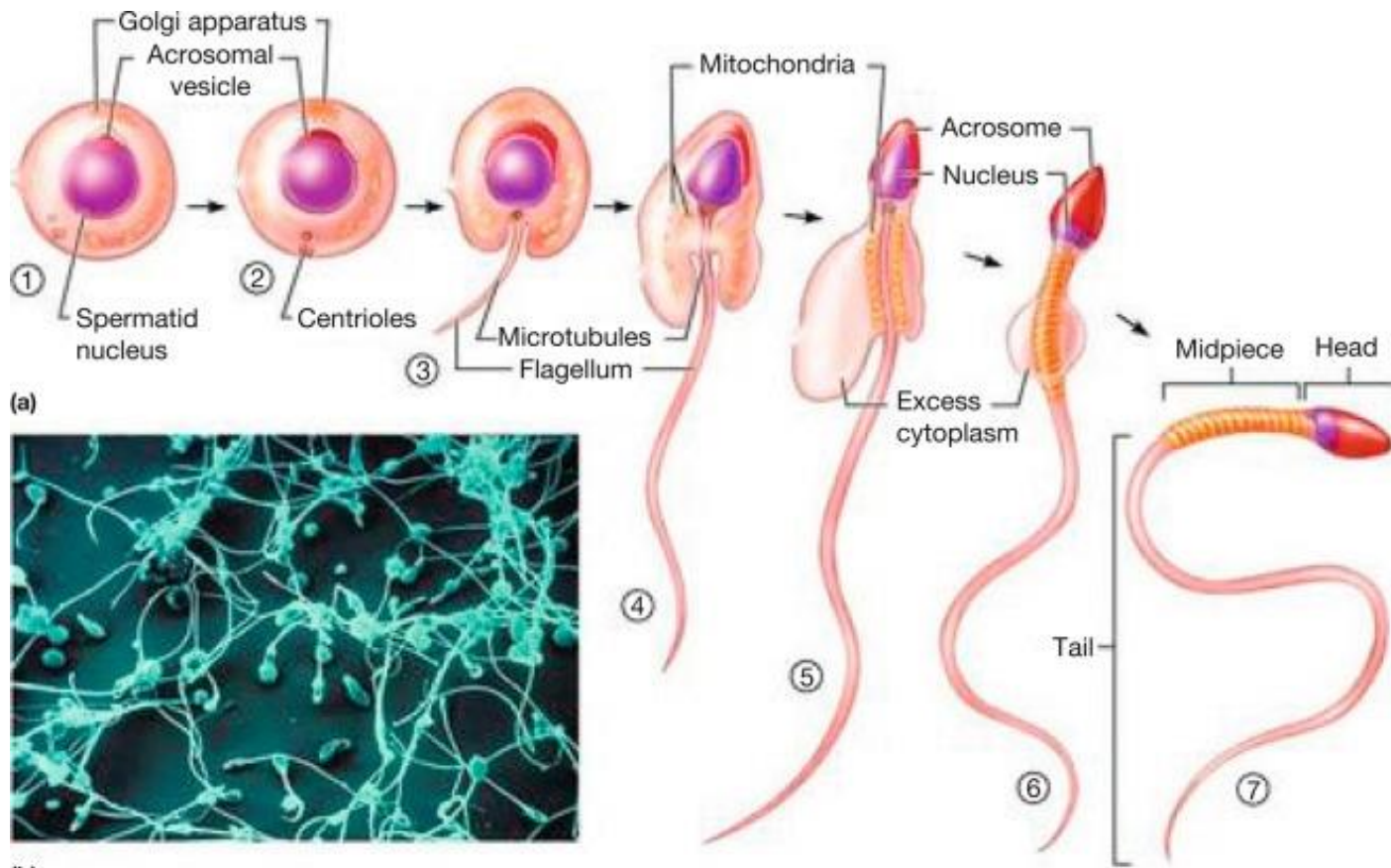


Golgiho fáze: spermie začínají vyvíjet polaritu vznikne hlavička, kde Golgiho aparát vytváří enzymy budoucího akrozomu. Na druhém konci se vyvíjí střední část-shromažďují se mitochondrie a distální centriol začíná tvořit axonema. V jádře dochází ke kondenzaci DNA- výměna histonů za protaminy, výsledkem je transkripčně inaktivní DNA.

Fáze čepičky/akrozomu: GA obklopuje kondenzované jádro a stává se z něj „čepička“ – akrozóm

Fáze formace bičíku: jedna z centriol spermie se začne prodlužovat a stává se bičíkem (dopomáhá k tomu dočasná struktura-tzv. “manžeta”). Bičíky spermií v této fázi směřují do lumen kanálku.

Fáze zrání: přebytečná cytoplazma, známá jako reziduální tělísko, je fagocytována Sertoliho buňkami.



Poruchy vývoje akrozomu mohou vést k jeho zakrnutí až absenci a tím ke změně tvaru hlavičky-tzv

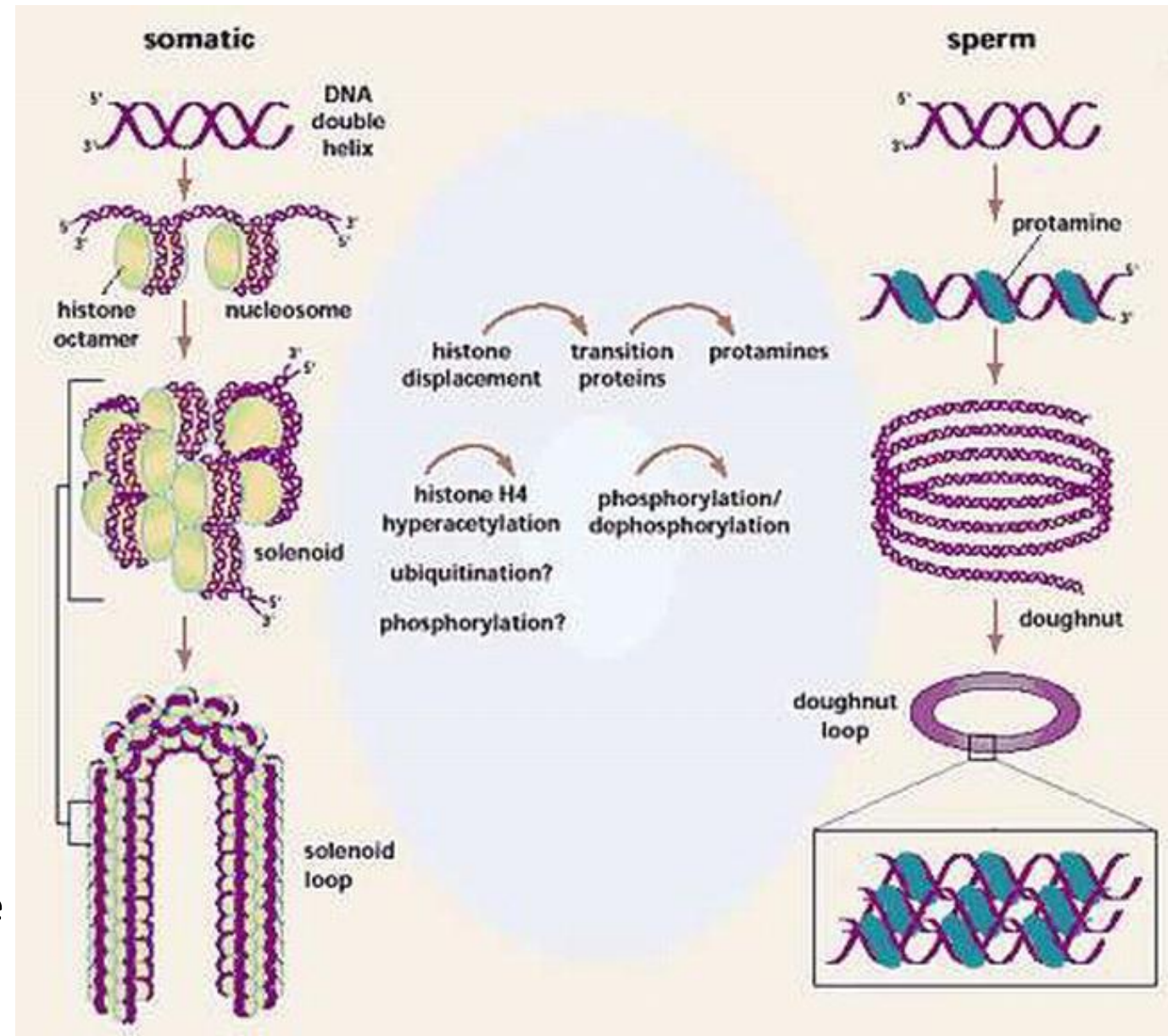
globozoospermie

Selhání jaderných proteinů (DPY19L2) při navázání akrozómu k jádru

Neschopnost oplodnit/aktivovat oocyt, lze řešit pomocí ICSI a aktivace oocytu

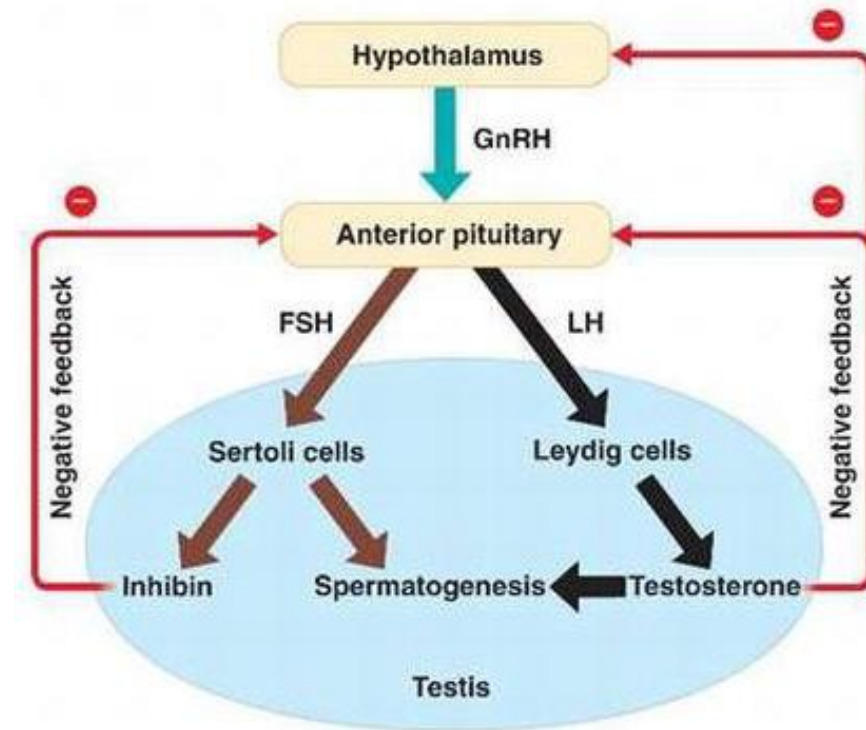
- Lidské spermie jsou ve skutečnosti zploštělé

- **Struktura chromatinu spermií** se liší od somatických buněk.
- Dochází ke kondenzaci → ztráta transkripční aktivity
- náhrada většiny histonů **protaminy** (malé, vysoce bazické proteiny bohaté na arginin, u mužů se nachází 2 typy protaminů, jejich poměr se individuálně liší)
- K hlavnímu balení chromatinu dochází v časných fázích spermiogeneze – původní struktura DNA vázaná na nukleozómy je destabilizována a dojde k vytvoření nové, asi 10x kompaktnější struktury chromatinu
- Část chromatinu si zachovává nukleozomové uspořádání (účast na časném vývoji embrya)
- **Epigenetické mechanismy** ovlivňující vývoj spermií : mi RNA, metylace DNA, demethylace DNA (např. otcovského imprintingu)

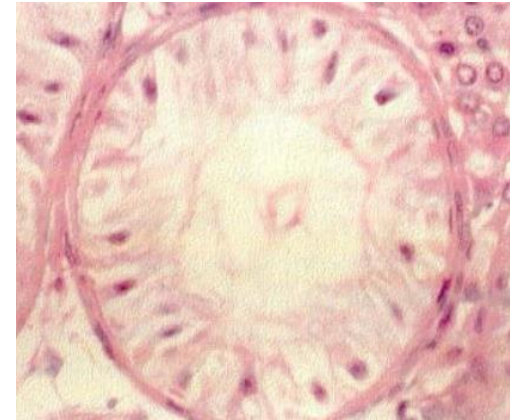


Hormonální regulace spermatogeneze

- **GnRH** vylučovaný pulsatilně hypothalamem stimuluje adenohypofýzu k sekreci klíčových hormonů regulujících vývoj spermií: **luteinizačního hormonu (LH)** a **folikuly stimulujícího hormonu (FSH)**
- FSH a LH působí na úrovni varlete
- **LH stimuluje Leydigovy buňky k produkci testosteronu** a nepřímo stimuluje spermatogenezi zvýšením intratestikulární koncentrace testosteronu; dále produkují faktory které přímo či nepřímo ovlivňují spermatogenezi: **INSL3** (insulin-like protein 3-sestup varlat), **oxytocin** (stimuluje produkci testosteronu)
- **Testosteron** se ve varleti váže na androgen binding protein produkovaný Sertoliho buňkami, krví je roznášen po těle a působí ve mnoha tkáních - vývoj mužských pohlavních orgánů, je jedním z iniciátorů puberty
- **FSH stimuluje Sertoliho buňky** → podpora spermií, sekrece androgen binding proteinu

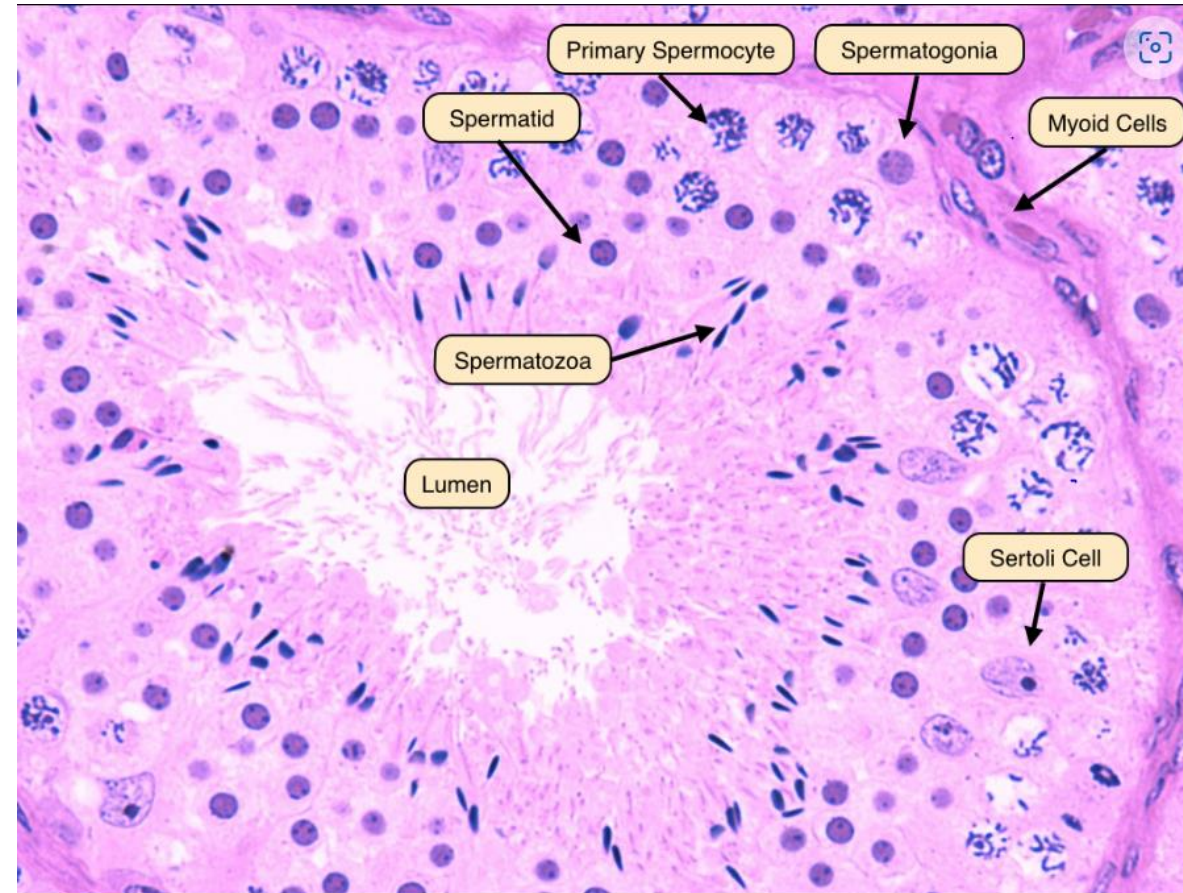


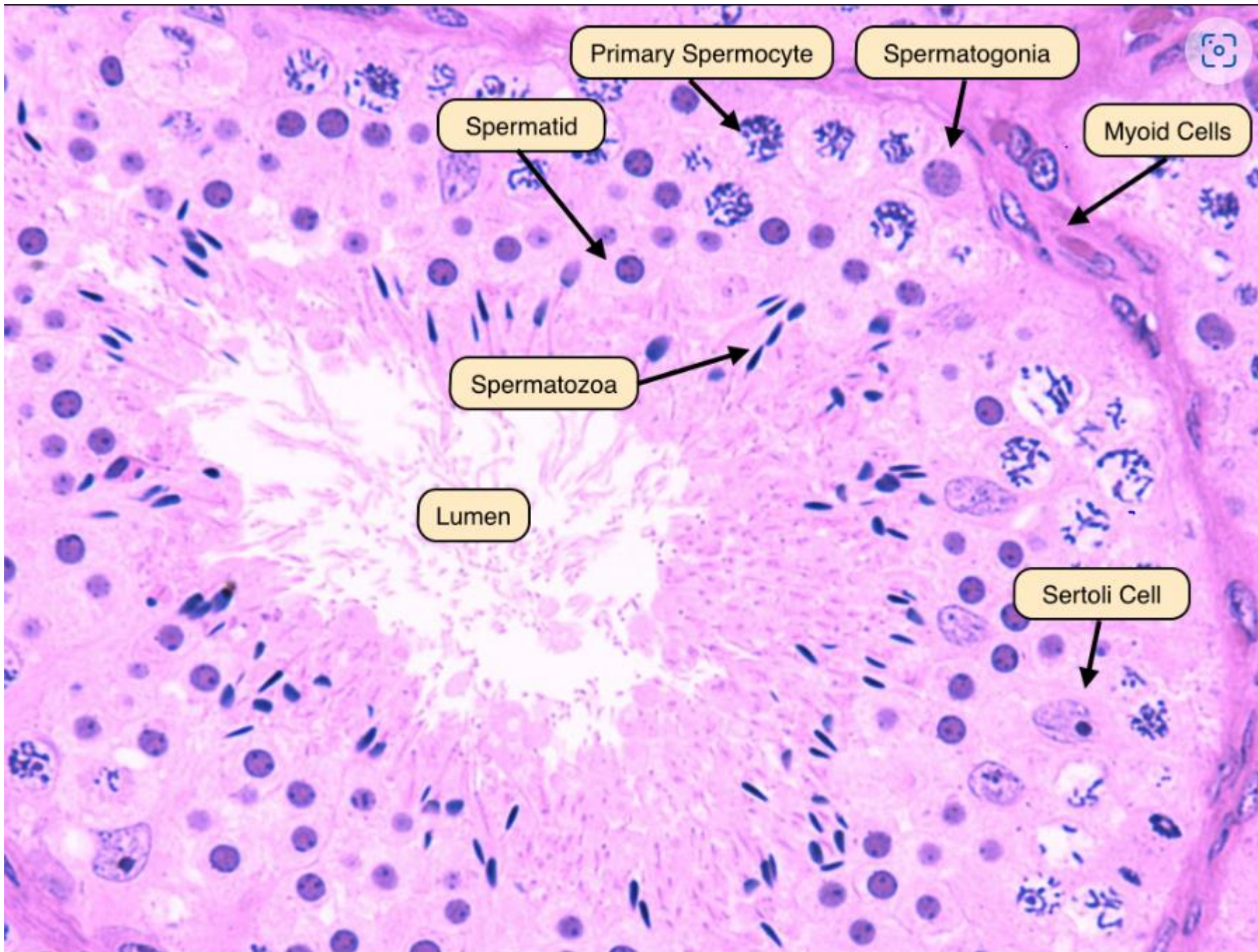
- klíčovou roli během spermatogeneze hrají i **prolaktin a růstový hormon**
- **Sertoliho buňky** dále produkují **AMH, inhibin a aktivin**; cAMP responsive element binding protein (CREB)-aktivace transkripce downregulátorů procesu spermatogeneze
- Activin zvyšuje hladiny FSH potřebné pro produkci spermatu, inhibin reguluje sekreci FSH hypotalamem a pomáhá udržovat testikulární homeostázu
- **Syndrom Sertoli cell only** je charakterizován výlučnou přítomností Sertoliho buněk (bez zárodečných buněk) v semenotvorných kanálcích, což znemožňuje spermatogenezi (sterilita bez pohlavních abnormalit)- neobstruktivní azoospermie
- Leydigovy a Sertoliho buňky produkují steroidní hormony
- Leydigovy buňky vylučují několik různých typů androgenů, včetně dihydrotestosteronu a testosteronu - modulace vývoje a zrání spermií

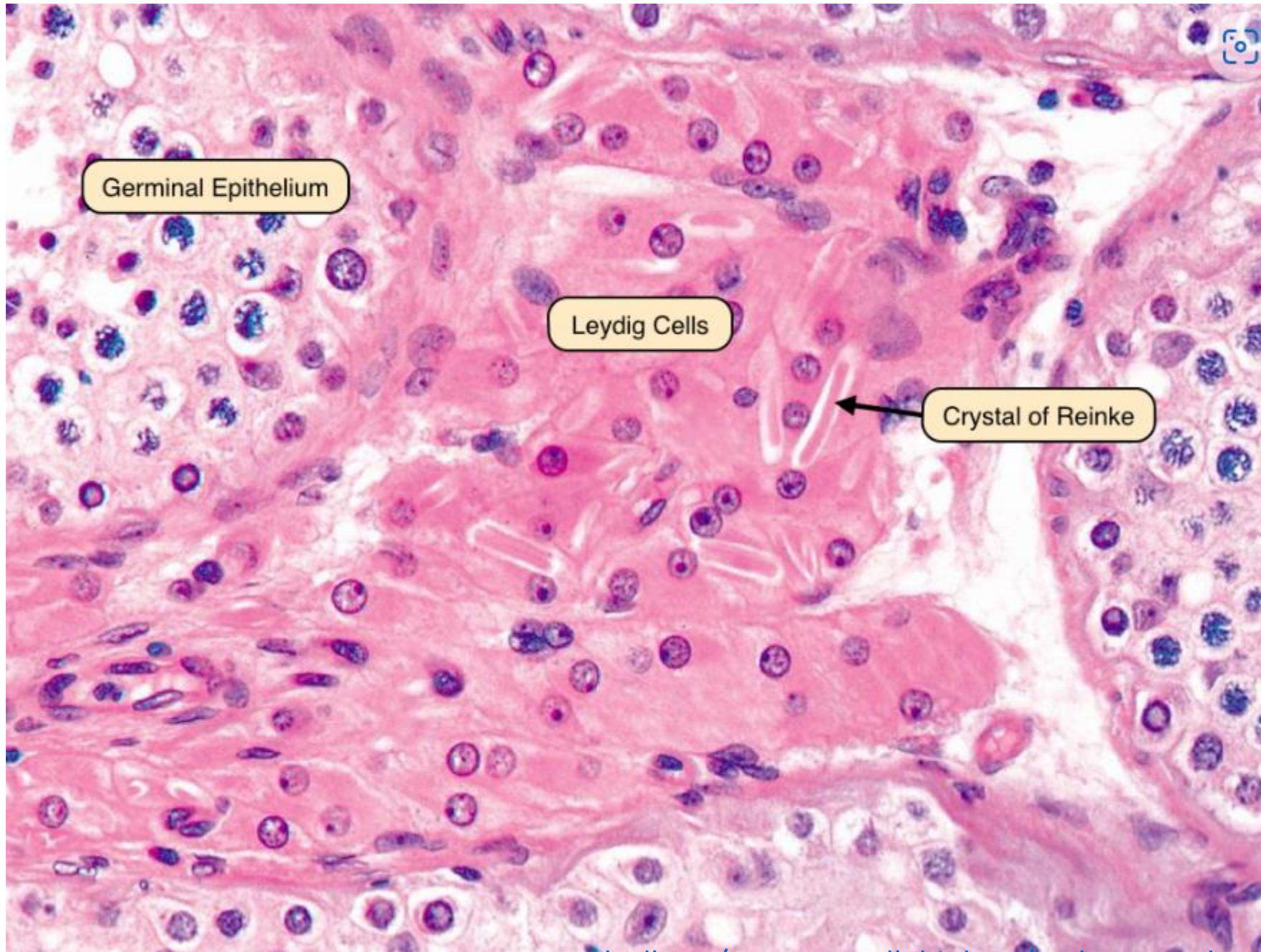


Struktura semenotvorného epitelu

- Unikátní struktura → dostatek živin vyvíjejícím se spermiiám a současně zajišťuje ochranu před imunitním systémem – **hematotestikulární bariéra** – tvořena zejména buněčnými spoji Sertoliho buněk a doplněna peritubulárními myeloidními buňkami a endoteliálními buňkami
- Na bazální laminu naléhají spermatogonie A, zatímco spermatogonie B jsou v kontaktu již jen částečně, malými plochami; v této vrchní části se také nacházejí Sertoliho buňky, tvořící svými buněčnými spoji a cytoplazmatickými projekcemi hematotestikulární bariéru
- Primární spermatocyty pronikají směrem do lumen kanálku skrze hematotestikulární bariéru a vstupují do části semenotvorného kanálku, kde probíhá meióza, tento kompartment je dokonale kryt před imunitním systémem, protože povrch spermiiám je vysoce imunogenní



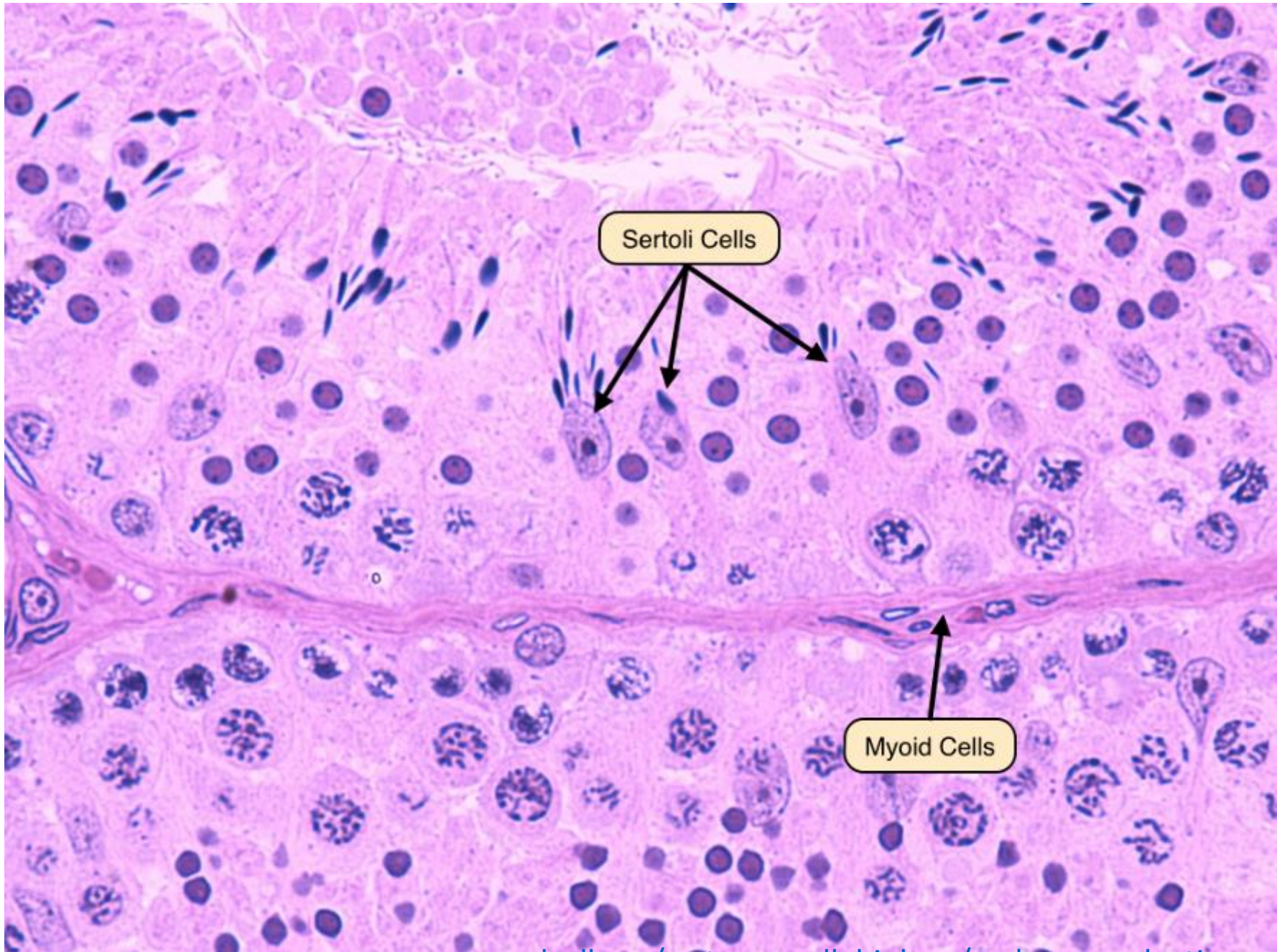


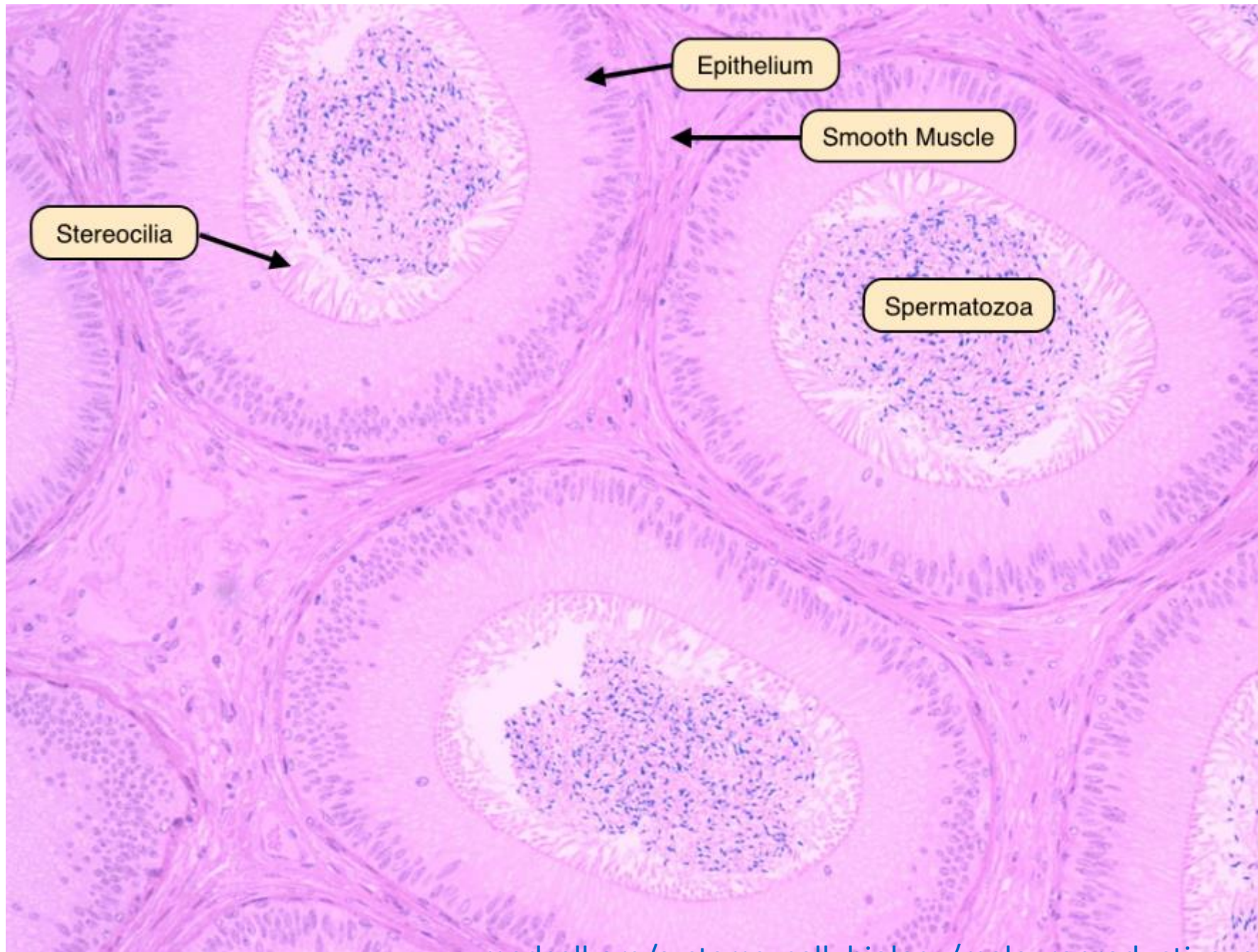


Germinal Epithelium

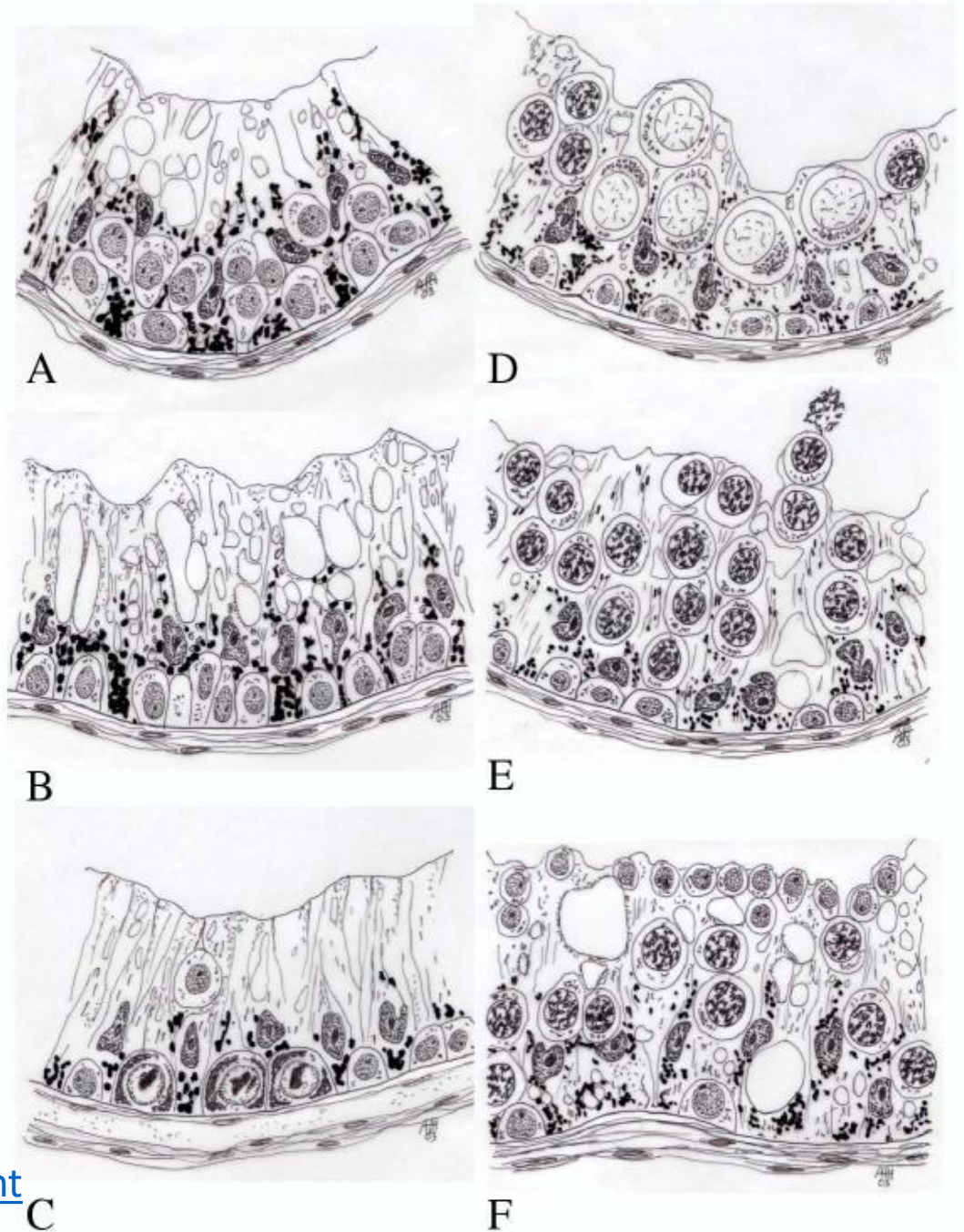
Leydig Cells

Crystal of Reinke



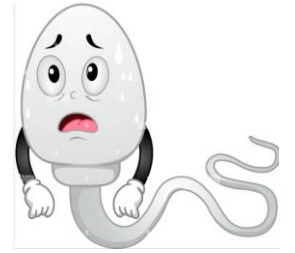


- (A) Arest spermatogeneze ve stadiu spermatogonií
- (B) Arest spermatogeneze ve stadiu spermatogonií A(světlých)
- (C) Nádorové buňky v bazálním kompartmentu zárodečného epitelu vytlačily spermatogonie
- (D) Megalospermatocytes s nedokončenou mitózou
- (E) Arest spermatogeneze ve stadiu spermatocytů I řádu
- (F) Arest spermatogeneze ve stadiu spermatid

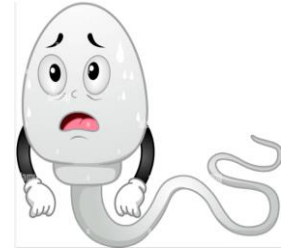


[Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment - PMC \(nih.gov\)](#)

Faktory ovlivňující spermiogenesi



- **Obezita** –hyperestrogenismus (enzym aromatáza v tukové tkáni-konverze testosteronu); hypoandrogenismus
- **Diabetes** – type 1DM –hyperglykemie, zvýšený oxidační stres- fragmentace DNA spermií
- **Enviromentální chemikálie**-endokrinní disrupce - **ftaláty**-snižují produkci testosteronu, zhoršují fce Sertoliho i zárodečných buněk (bifosfenol A)
Kadmium, dioxin –narušení hematotestikulární bariéry
Etylen dibromid- změny ve struktuře chromatinu spermií
DBCP (1,2 -dibromo -3- chloropropan)-zvyšuje oxidační stres
- **Varikokéla** – rozšíření žil žilní pleteně, která odvádí odkysličenou krev z varlat do břicha- reflux; 15% mužů, 35% neplodných mužů
-skrotální hypertermie, zvýšená produkce semenogelinů(inhibice motility, hyperaktivace a kapacitace), apoptóza, oxidační stres (snížená produkce androgenů)



- **Genetické faktory**- 15-30% mužské neplodnosti

Klineferterův syndrom- 47XXY (46XY,/47XXY; 48,XXXY; 48,XXYY); 5% těžkých oligozoospermii, 10% NOA (non-obstrukční azoospermie); hypergonadotropní hypogonadismus, kognitivní poruchy

Mikrodelece Y chromozomu- dlouhé raménko, AZF faktor- geny kritické pro spermiogenezi: regiony AZFa (geny regulátorů spermatogeneze → azoospermie a SCO), AZF b (azoospermie, časný maturační arest), AZFc (azoospermie a těžké oligozoospermie, po TESE lze najít spermie)

- **Epigenetické faktory**- metylace DNA, metylace histonů, acetylace histonů, fosforylace histonů; klíčová událost ve spermiogenezi je epigenetické reprogramování zárodečných buněk-zvýšená metylace DNA je asociována s nižší kvalitou spermií
- Prader-Willi syndrom, Beckwith-Wiedemann syndrom, Angelman syndrom – asociace s ART (jednou z příčin nekompletně reprogramovaná spermie?)

- [Hormonal regulation of spermatogenesis in Hindi – YouTube](#)
- [Hormonal control of spermatogenesis process for AIIMS JIPMER. - YouTube](#)