

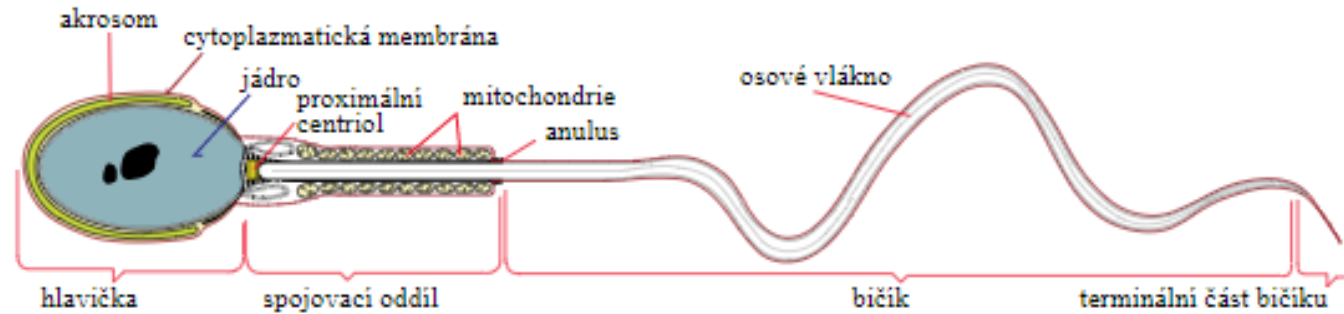
# Andrologie

Soňa Kloudová

[sona.kloudova@med.muni.cz](mailto:sona.kloudova@med.muni.cz)

5.3.2024

# Savba spermie



Spermie –WikiSkripta

- Hlavička
- Spojovací část (krček)
- Bičík: střední část (mitochondriální spirála, nejsilnější), hlavní část (nejdelší, chráněná pláštěm, koncová část (krytá pouze buněčnou membránou, nejtenčí)

Velikost lidské spermie: **56–59**  $\mu\text{m}$

hlavička: délka **4,5**  $\mu\text{m}$ , šířka 2,5–3,5  $\mu\text{m}$

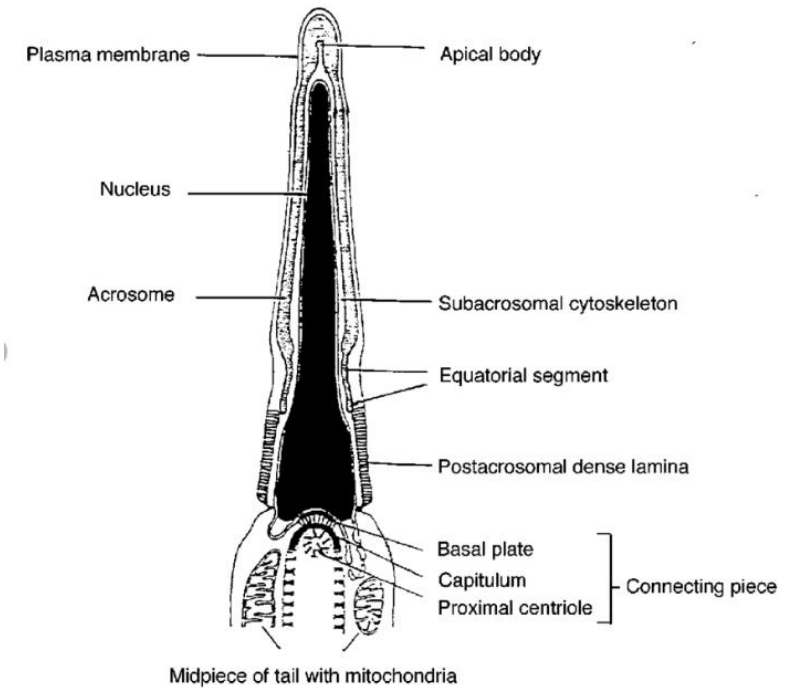
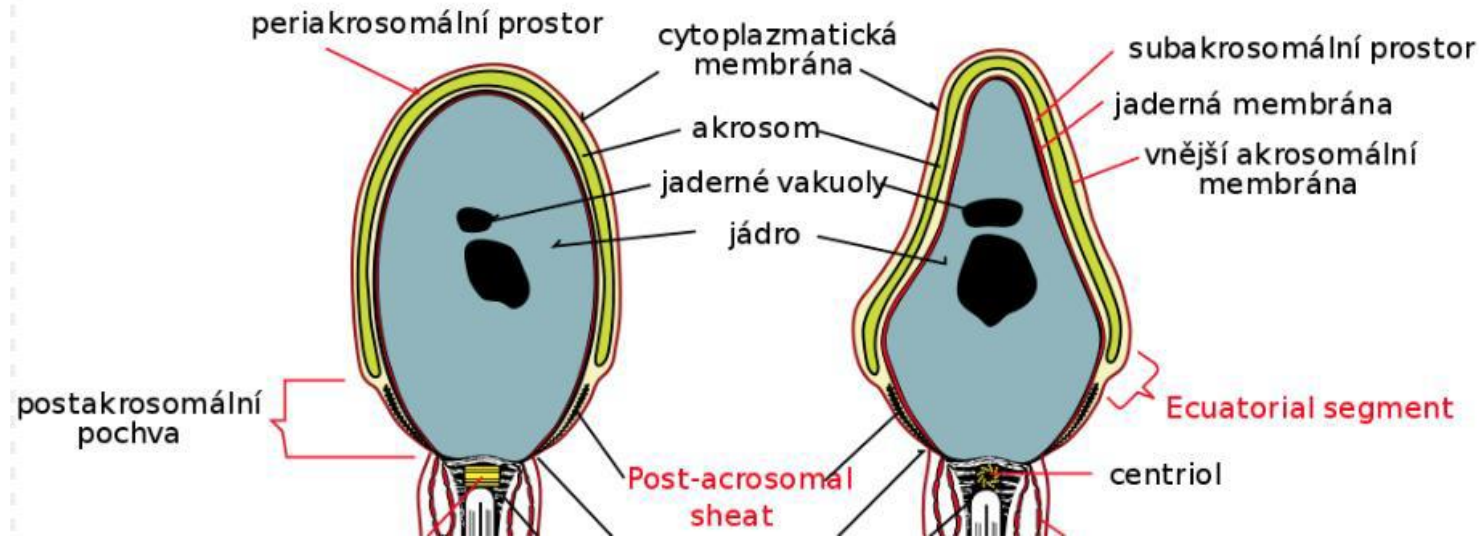
bičík: **54**  $\mu\text{m}$  (střední část 4–5  $\mu\text{m}$ , hlavní část 46  $\mu\text{m}$ )

Velikost kančí spermie: **48–54**  $\mu\text{m}$

hlavička: délka **6-8**  $\mu\text{m}$

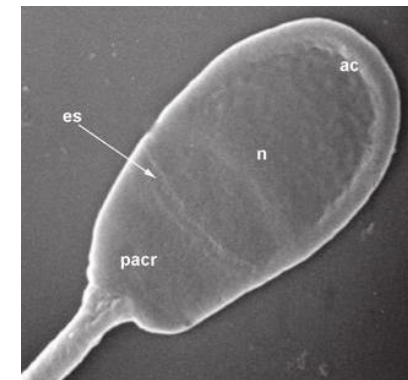
bičík: **31-46**  $\mu\text{m}$

# Hlavička



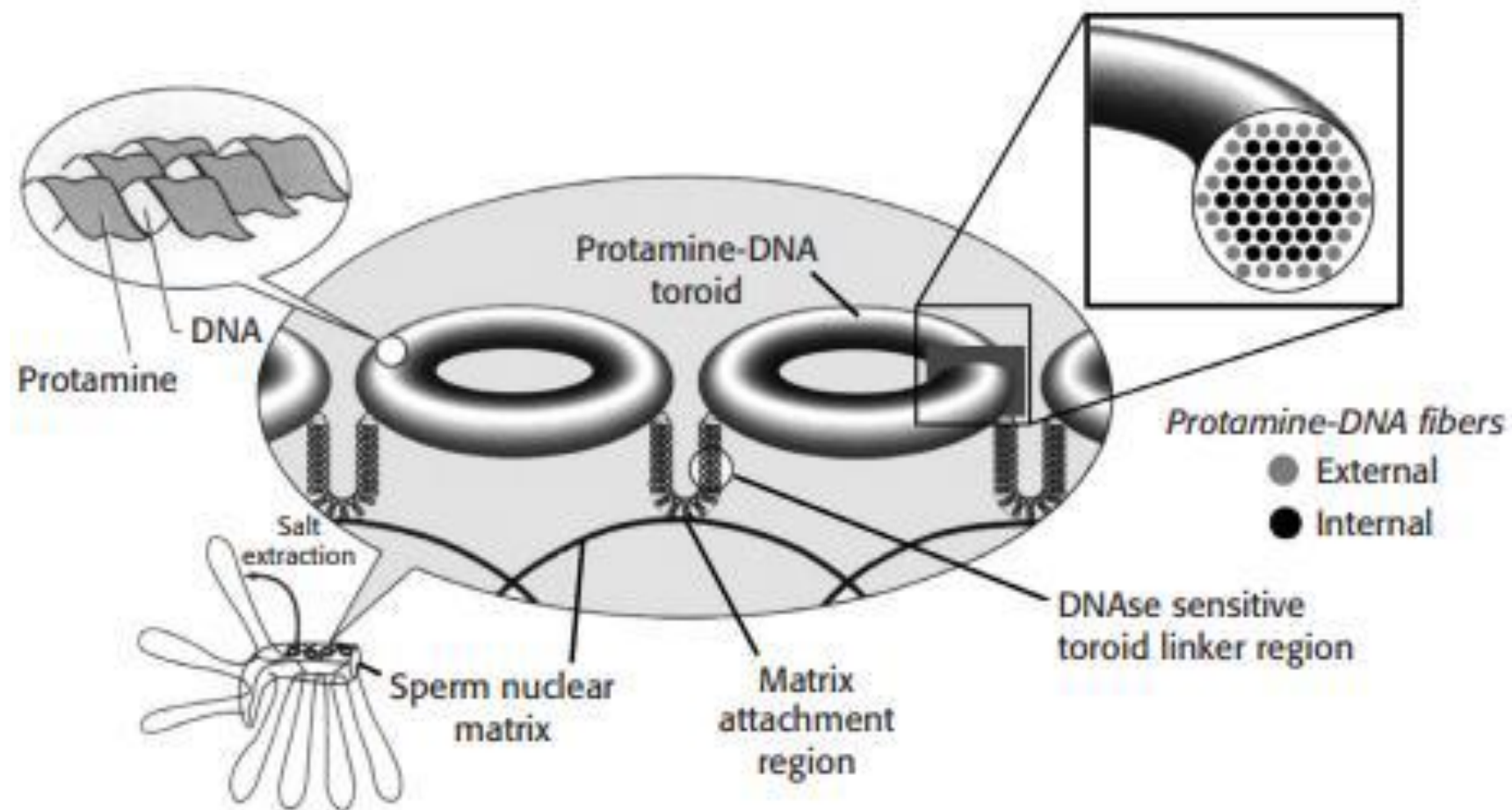
- 3 části: **anteriorní část** (apikální akrozom), **ekvatoriální segment** a **posteriorní část**
- **Jádro**-vyplňuje většinu prostoru, udává tvar, obsahuje DNA, během spermiogenese inaktivace DNA, náhrada histonů protaminy-kovalentní disulfidické vazby mezi cysteinovými zbytky proteinů-stabilizace chromatinu + **kondenzace DNA**
- **Perinukleární théka**–proteiny stabilizované disulfidovou vazbou, tvořící pevnou matrix –ochrana jádra, drží tvar

[https://www.researchgate.net/figure/Section-of-a-sperm-head-of-a-bull-showing-principal-and-equatorial-segments-of-acrosome\\_fig1\\_16360374](https://www.researchgate.net/figure/Section-of-a-sperm-head-of-a-bull-showing-principal-and-equatorial-segments-of-acrosome_fig1_16360374)

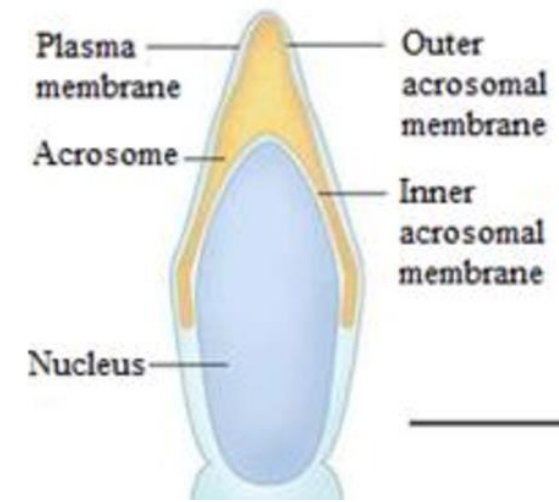


[https://www.researchgate.net/figure/SEM-view-of-Rabbit-sperm-head-ac-acrosome-n-nucleus-es-equatorial-segment\\_fig4\\_279937301](https://www.researchgate.net/figure/SEM-view-of-Rabbit-sperm-head-ac-acrosome-n-nucleus-es-equatorial-segment_fig4_279937301)

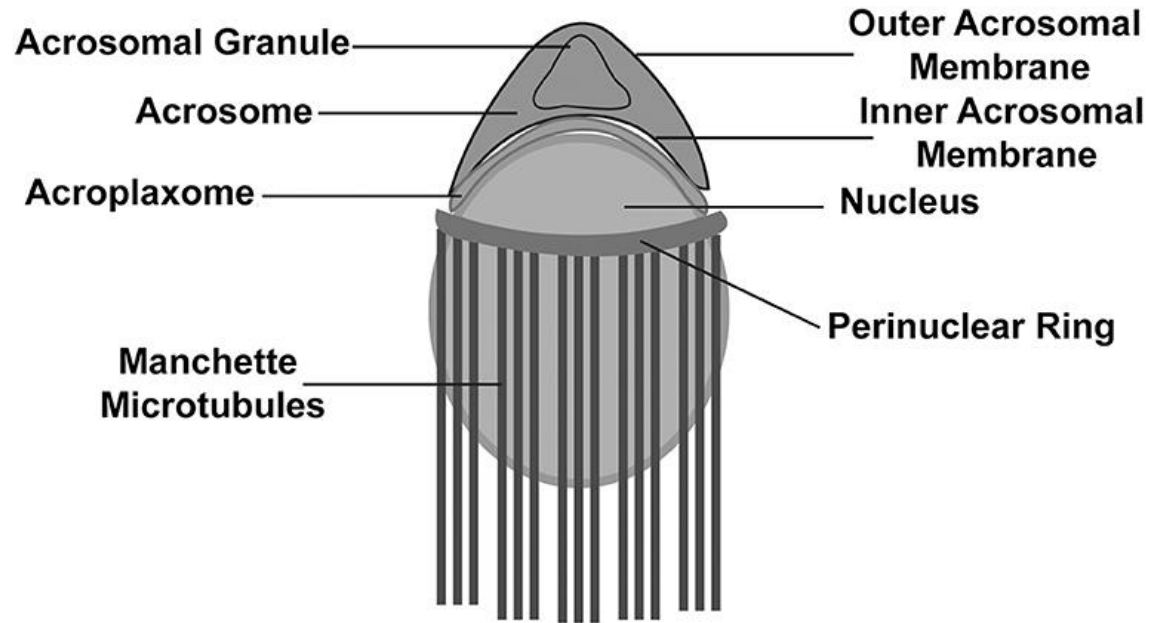
## Sperm DNA damage and chromatin structure



*Donut-Loop model for sperm chromatin structure.* This model was modified from (Sotolongo *et al.*, 2003) and reveals the internal structure of the protamine-DNA fibers within the toroid (inset)



- **Akrozom** – specializovaná sekreční organela, obsahující trávicí enzymy; původem z GA, ale zakládá se již v raném stádiu spermatogeneze (organela podobná lysozomu) ;  
anteriorní segment a ekvatoriální segment akrozomu -ve střední části spermie  
vnější akrozomální membrána (pod plasmatickou membránou spermie - receptory nutné pro interakci se ZP oocyty), vnitřní akrozomální membrána
- **Obsah akrozomu**: akrosin, hylauronidáza, serinová proteináza, proteázy, glykosidázy, polotuhé matricové proteiny s vysokou elektronovou hustotou; podílí na akrozomální reakci, na interakci spermie se ZP, některé funkce molekul akrozómu jsou stále nejasné
- **Akrosin**–výhradně v akrozomech spermií, uskladněn je tam ve formě neaktivního zymogenu (proakrosin)
- **Hyaluronidáza**–štěpí ECM cumulus oophorus oocyty
- Akrosin, hyaluronidáza a serinová proteináza hrají významnou úlohu při fertilizaci
- Při akrozomální reakci akrozomální membrána splyne s plasmatickou membránou spermií a dochází k uvolnění enzymů → štěpení ZP a membrány oocyty



## Schematické znázornění vyvíjející se spermatidy

- Vyvíjející se spermatida má prodlužující se jádro obklopené **perinukleárním prstencem** a **mikrotubulovou manžetou**.
- Akrozom se vyvíjí nad jádrem, ke kterému je připojen pomocí akroplaxomu

Frontiers | Mechanism of Acrosome Biogenesis in Mammals ([frontiersin.org](https://www.frontiersin.org))

Podle nejnovějších výzkumů metabolismu spermií akrozom považujeme za organelu související s **lysosomy** (LRO - lysosome related organel) – probíhají v něm biosyntetické i endocytické procesy



**Tvarování hlavičky** spermie je koordinováno mimo jiné i jadernou kondenzací.

Na tvarování hlavy do druhově specifické morfologie (např. háčkovitý tvar u myši a oválný tvar u lidí) se podílejí dvě odlišné subcelulární struktury – **akroplaxom** a **manchette** (manžeta).

Ukotvení akrozomu k povrchu jádra je zprostředkováno přes **akroplaxom** (prenukleární theca), což je tenká vrstva cytoskeletálních prvků mezi jadernou a akrozomální membránou.

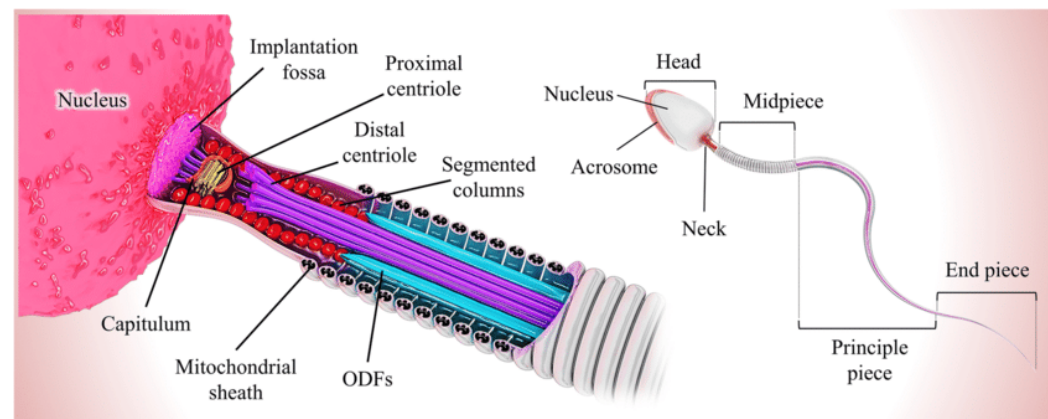
V roce 2002 byla objevena fosfolipáza C zeta (PLC $\zeta$ ), která sídlí v postakrozomální pochvě perinukleární théky a je nezbytná pro aktivaci oocytů .

Akroplaxom se skládá z myosinu, F-aktinu a složek obsahujících keratin nezbytných pro rozvoj akrozomu. **Akroplaxom** poskytuje **mechanickou** při prodloužení hlavičky spermie .

**Manžeta** - je přechodná mikrotubulární struktura obklopující jádro. Nachází se v prodlužujících se Spermatidách. Skládá se až z 1000 mikrotubulů a skládá se z  $\alpha$  a  $\beta$  tubulinových heterodimerů. Vzhled manžety se v průběhu vývoje spermie mění. Nejprve se objevují krátké mikrotubuly, následně se skládají a ovíjejí těsně jaderný povrch a nakonec se manžeta rozloží. Předpokládá se, že manžeta napomáhá nukleocytoplazmatické výměně látek, mechanickému přetváření a prodloužení jádra spermie a pomáhá i při stavbě bičíku spermie. Napomáhá odstranění přebytku a kondenzaci jádra. Jakýkoli zásah do struktury nebo funkce manžety může potenciálně vést k abnormálnímu tvaru hlavičky. Bylo identifikováno několik genů, které jsou spojeny s tvorbou a vývojem manžety. Některá mutagenní činidla, včetně inhibitorů dynamiky mikrotubulů (např. alkylační činidla), mohou vyvolat poruchu manžety.



# Krček, střední část

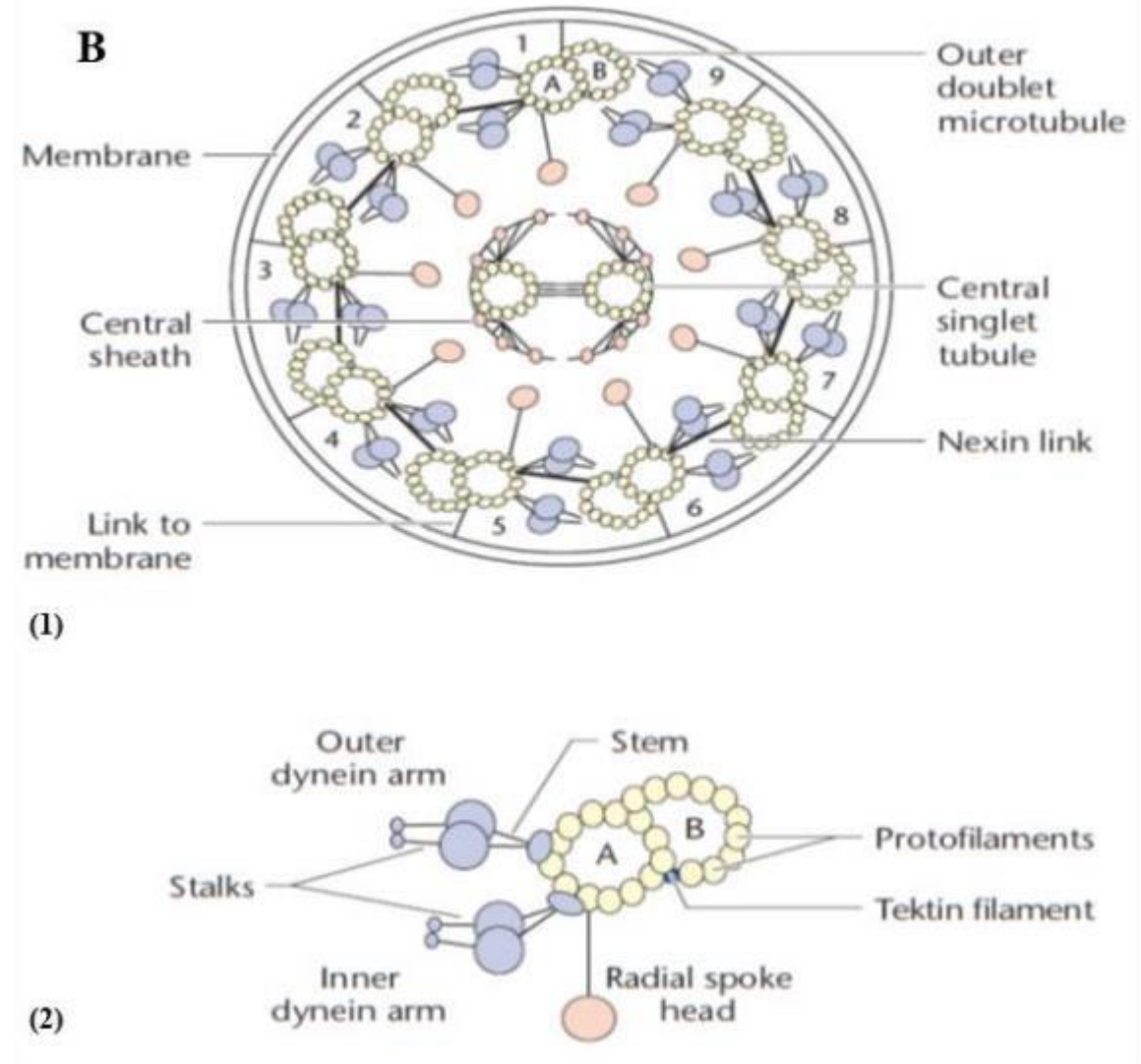


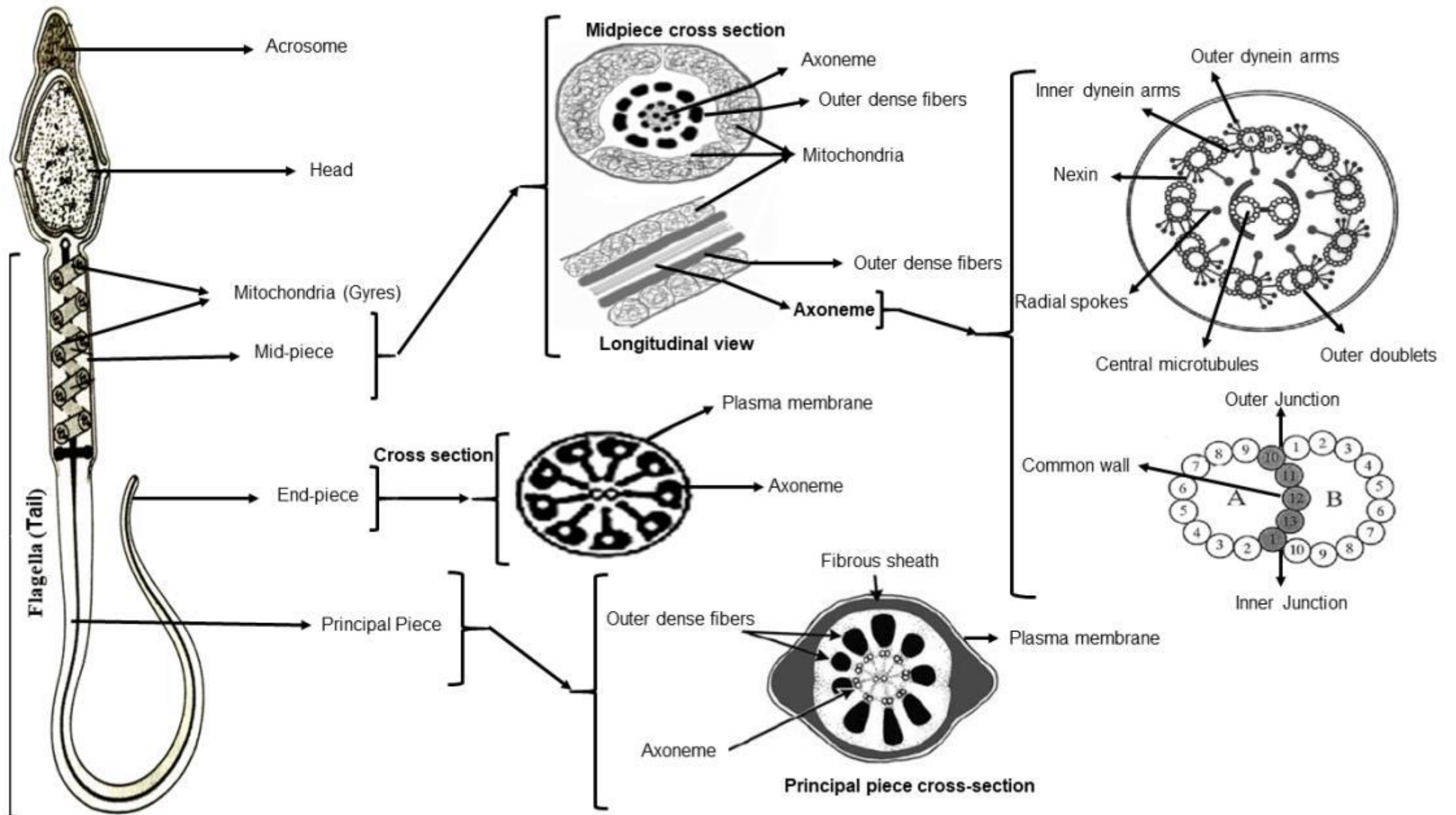
[https://www.researchgate.net/figure/A-Schematic-diagram-of-normal-human-spermatozoa-A-normal-spermatozoon-is-composed-of-the\\_fig1\\_348530995](https://www.researchgate.net/figure/A-Schematic-diagram-of-normal-human-spermatozoa-A-normal-spermatozoon-is-composed-of-the_fig1_348530995)

- **Krček**: obsahuje remodelované centrioly, které postrádají mnoho proteinů typických pro centrioly somatických buněk a přechodové struktury spojující hlavičku se střední částí spermie.
- **Centrioly** hrají důležitou roli v zygotě při rekonstrukci centrosomu, defekty v oblasti krčku proto mohou mít velmi negativní dopad na plodnost
- **Střední část**: obsahuje cytoskeletární struktury a podlouhlé navzájem propojené mitochondrie - **mitochondriální spirála** (uspořádaná do „gyrů“)
- Mitochondrie se během spermatogeneze kondenzují a stávají se aktivnějšími; zdroje energie jsou dodávány Sertoliho buňkami (laktát a pyruvát)
- Hlavní metabolické centrum spermií (produkce energie, redoxní rovnováha, metabolismus vápníku, apoptóza)

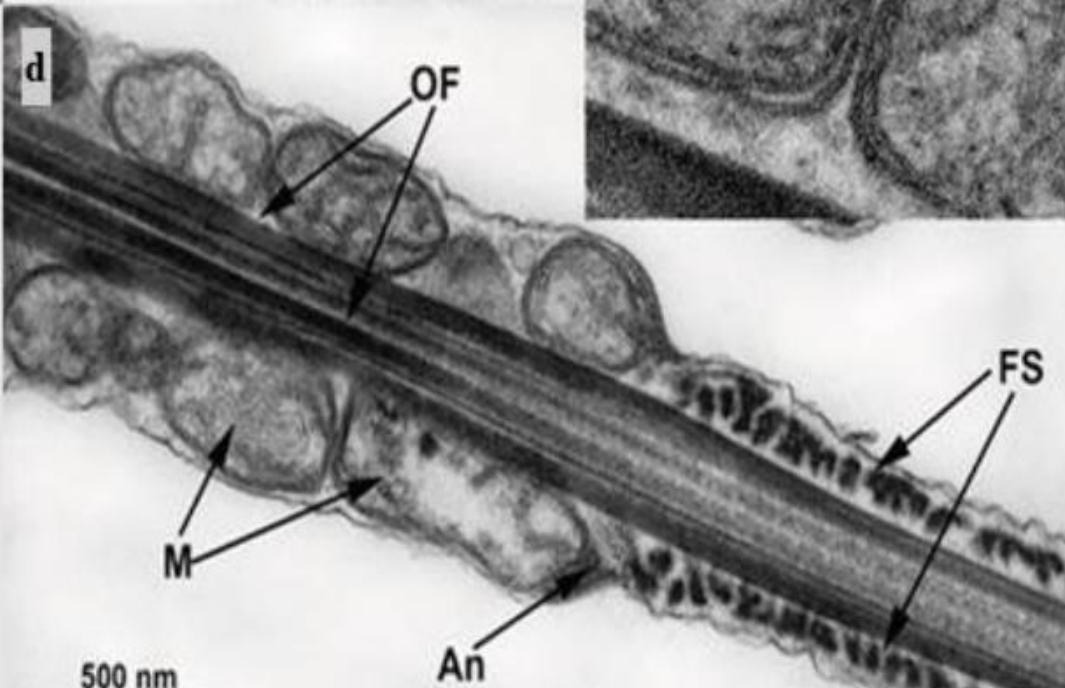
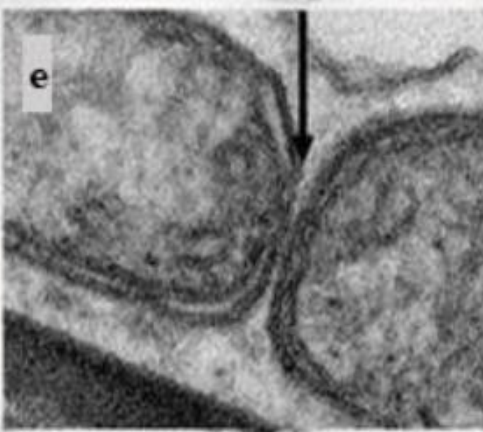
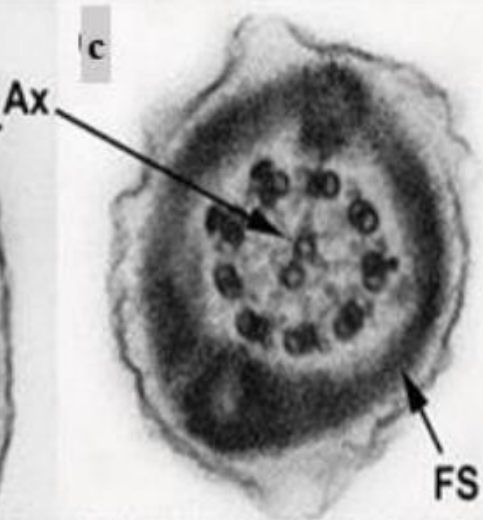
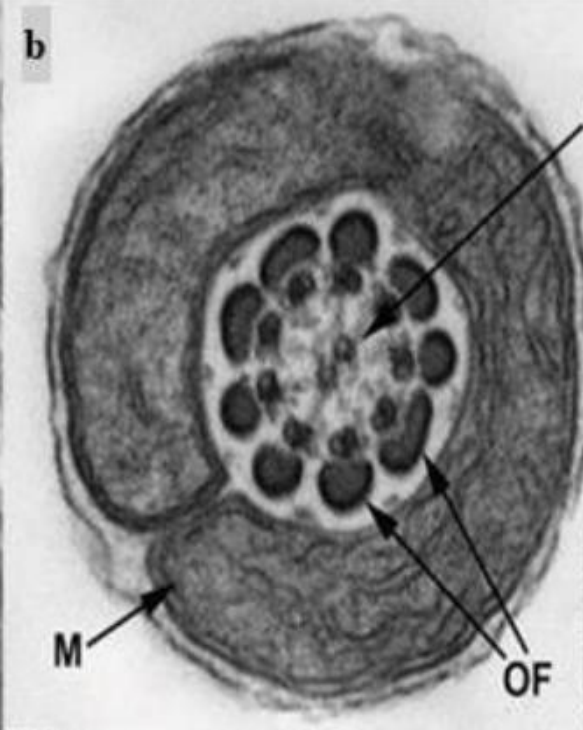
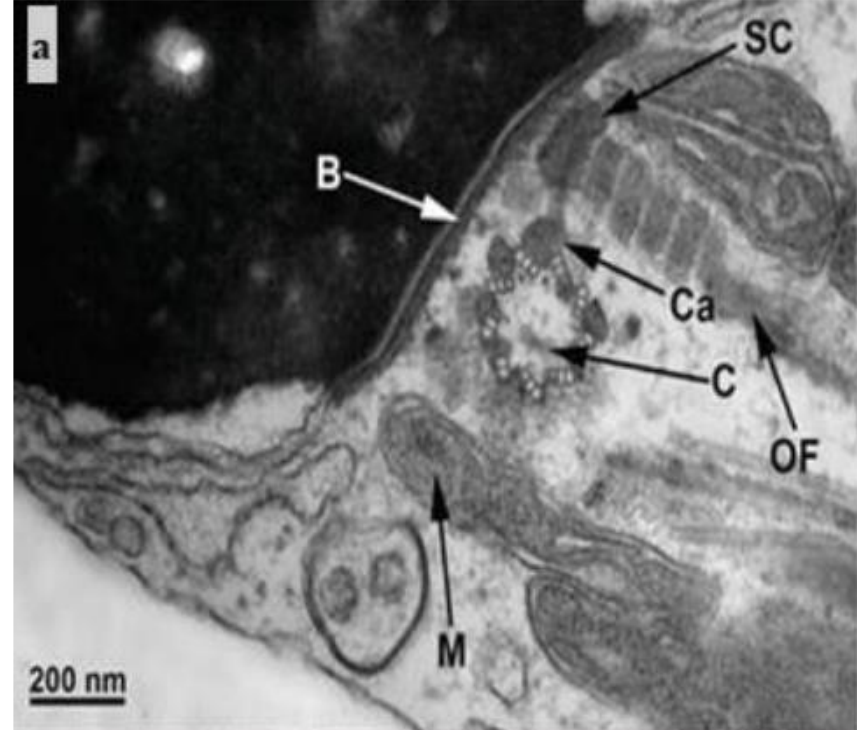
# Bičík

- Specializovaná organela se složitou strukturou
- **Axonema** - osa bičíku, asi 250 proteinů : 2 **centrální mikrotubuly** a 9 **dvojic periferních mikrotubulů**
- Polymerující dimery  **$\alpha$  tubulinu** a  **$\beta$  tubulinu**; **dyneiny-ATPázy** zajišťující energii –ramena nasedají na periferní mikrotubuly
- Centrální mikrotubuly jsou spojeny centrálním párovým mostem
- zajišťuje pohyb -1000 proteinů
- Bičík: **střední část** (mitochondriální spirála, nejsilnější), **hlavní část** (nejdelší, chráněná pláštěm-obsahuje periaxonemální struktury-hustá vlákna), **koncová část** (axonema kryté pouze buněčnou membránou, nejtenčí)





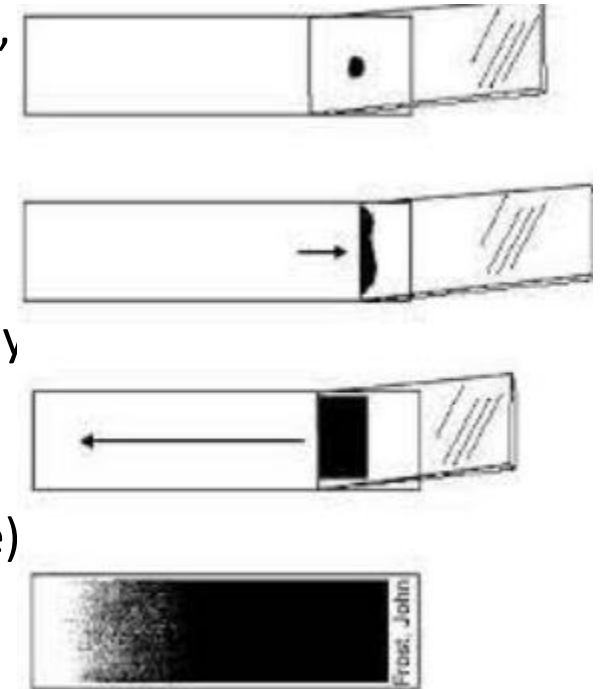




An: Annulus;  
 Ax: Axoneme;  
 B: Basal plate;  
 C: Centriole;  
 Ca: Capitulum;  
 FS: Fibrous sheath;  
 M: Mitochondria.  
 OF: Outer dense fibers;  
 SC: Striated column;

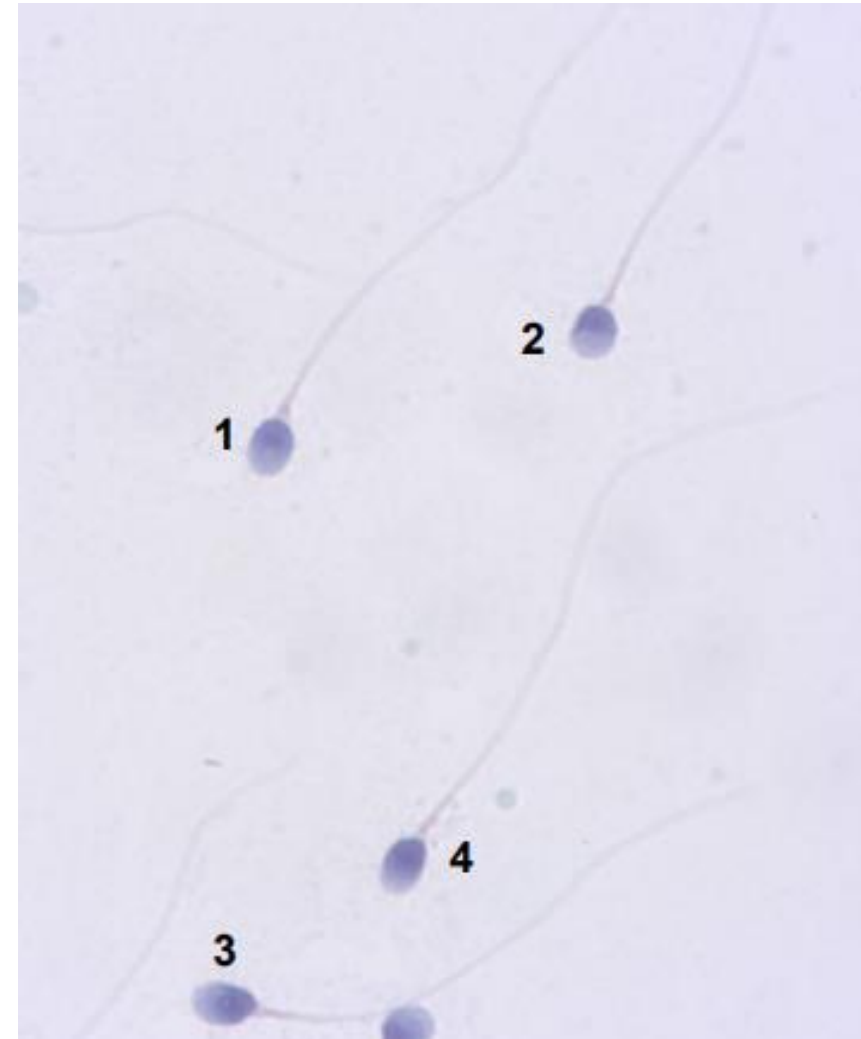
# Hodnocení morfologie spermií

- Roztěr - kvalitní technika
- Barvení- vizualizace jádra a struktur akrozomu: **Papanicolauovo barvení**, **Diff Quick**
- liší se osmolalita, změny ve velikosti hlavičky spermií
- Školený personál –**tréninky** morfologického hodnocení (existují programy externí kontroly hodnocení → **standardizace**)
- WHO: **Striktní morfologická kritéria** –výhodné pro snížení odchylky mezi hodnotícími (vše co je borderline (přechodné) se považuje za patologické)
- Indexy mnohočetných defektů (např. **TZI –teratozoospermní index**)- indexem vyjádří míru všech defektů spermií – nebyla dostatečně prokázána klinická významnost



### Kategorie hodnocení abnormalit spermií:

- **Hlavička** (podíl spermií s normální hlavičkou)
- **Střední část** (podíl spermií s normální střední částí)
- **Bičík** (podíl spermií s normálním bičíkem )
- **Cytoplasmatická kapénka** (podíl spermií s cytoplasmatickou kapénkou)



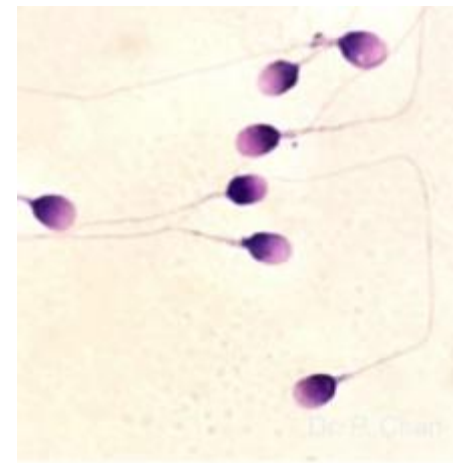
# Hlavička

## Normální hlavička

- Hlavička by měla být hladká, pravidelně konturovaná, oválná
- Akrozomální region by měl být zřetelný a měl by zabírat asi 40-70% tvaru hlavičky; neměl by obsahovat velké vakuoly a ne více než dvě malé vakuoly (které by neměly tvořit více než pětinu objemu hlavičky).
- Postakrozomální region by neměl obsahovat žádné vakuoly.

## Abnormální hlavička

- Akrozom je větší nebo menší než 40-70% tvaru hlavičky
- Poměr délky k šířce je menší než 1,5(kulatá) nebo větší než 2 (protáhlá)
- Hruškovitý tvar, amorfní tvar, asymetrická
- Vakuoly tvoří více než 1/5 objemu hlavičky a nebo se nacházejí v postakrozomální oblasti
- Dvojité hlavičky





# Abnormální hlavička

## A. Head defects

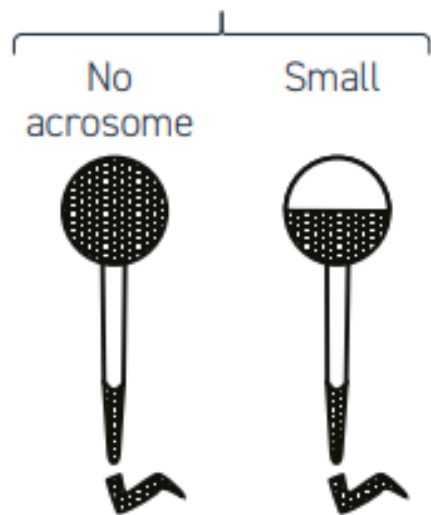
(a)  
Tapered



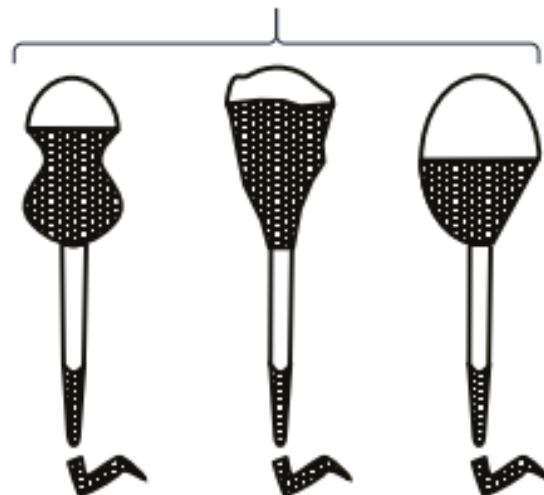
(b)  
Pyriform



(c)  
Round



(d)  
Amorphous



(e)  
Vacuolated



(f)  
Small acrosomal area



# Stření část

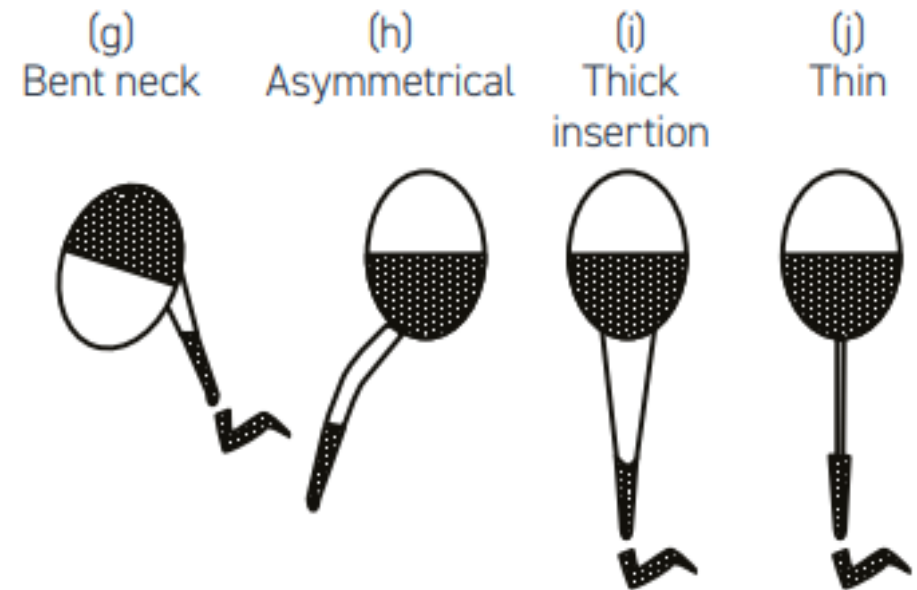
## Normální střední část

- Střední část by měla být štíhlá, pravidelná a přibližně stejně dlouhá jako hlavička spermie.
- Hlavní osa střední části by měla být zarovnána s hlavní osou hlavičky spermie

## Abnormální střední část

- nepravidelný tvar, tlustá nebo tenká, asymetrická nebo zahnutá inserce, ostře zahnutá

## B. Neck and midpiece defects



# Bičík

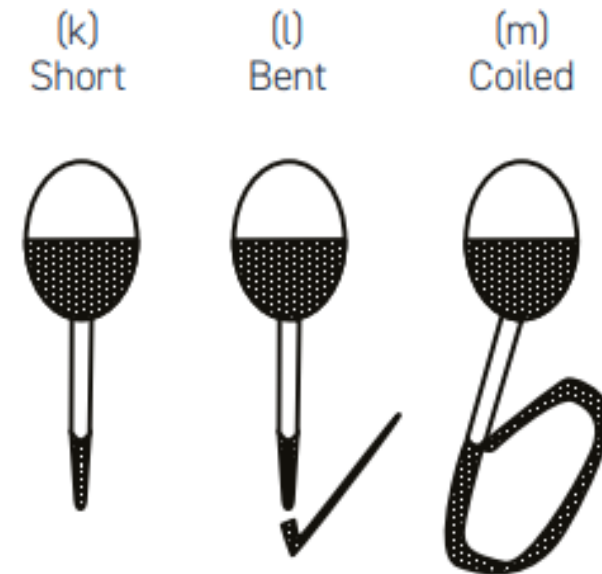
## Normální bičík

- Hlavní část bičíku by měla mít stejný průměr podél své délky, měla by být tenčí než střední část
- Délka přibližně 45  $\mu\text{l}$  (desetinásobek hlavičky spermie)
- Může být ohnutý do smyčky, ale nesmí být patrný ostrý zlom

## Abnormální bičík

- Ostře zahnutý (zlomený), příliš tenký, krátký, nepravidelně široký, mnohočetný nebo kombinace

## C. Tail defects

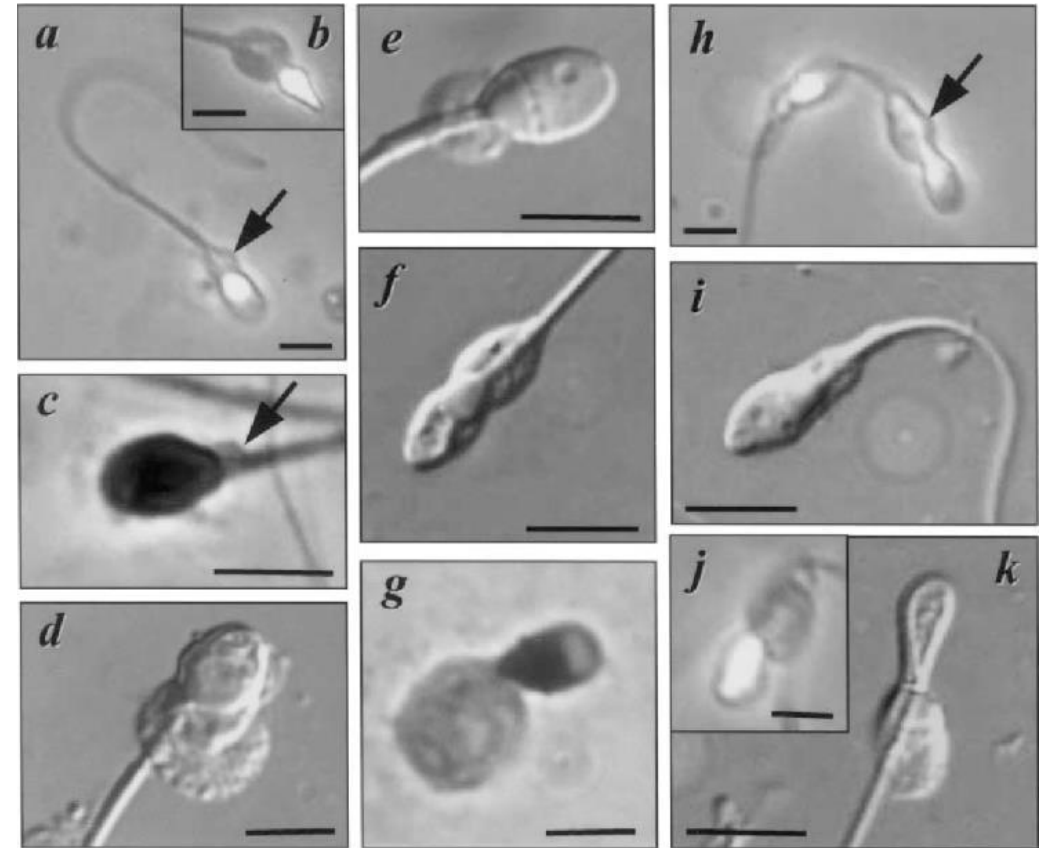


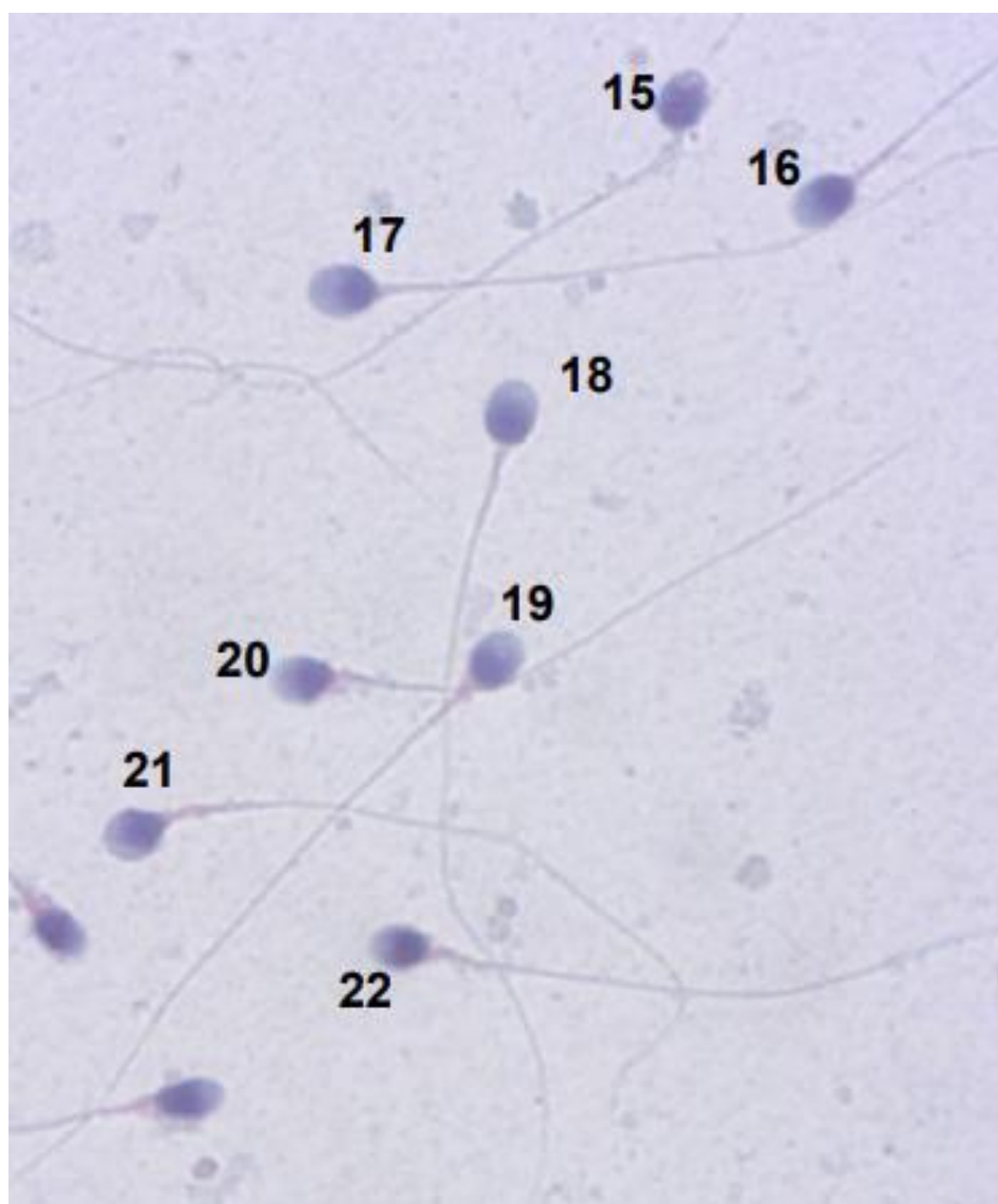
# Cytoplasmatická kapénka

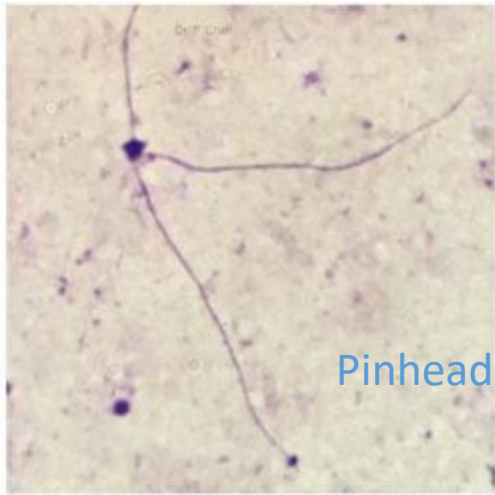
- Cytoplasmatické kapénky (menší než 1/3 objemu hlavičky) jsou normální
- Jako **abnormální** jsou klasifikovány pouze přesahují-li 1/3 velikosti hlavičky
- Při fixaci a barvení se obvykle odmyjí a nejsou již na preparátu vidět

## D. Excess residual cytoplasm

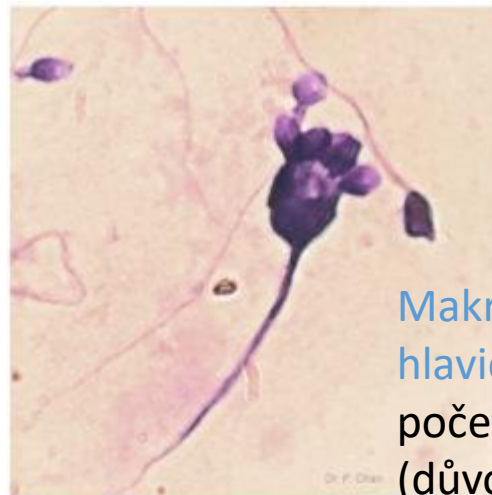
(n)  
> one third head



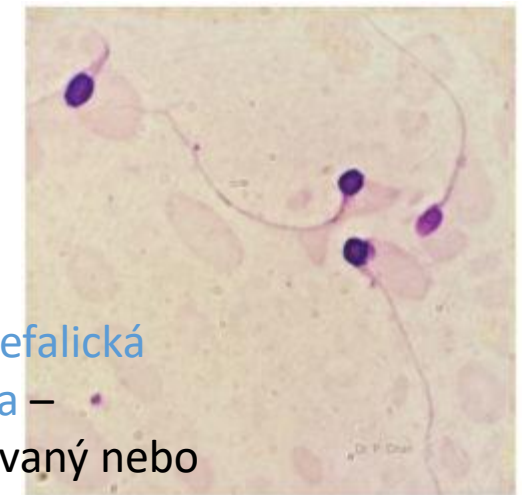




Pinheads – bez DNA



Makrocefalická hlavička – zvýšený počet chromozomů (důvodem může být homozygotní mutace genu aurora kinázy C)



Mikrocefalická hlavička – redukovaný nebo chybějící akrozóm



Velká ztluštělá střední část



Zúžená hlavička hlavička – může indikovat varikokélu



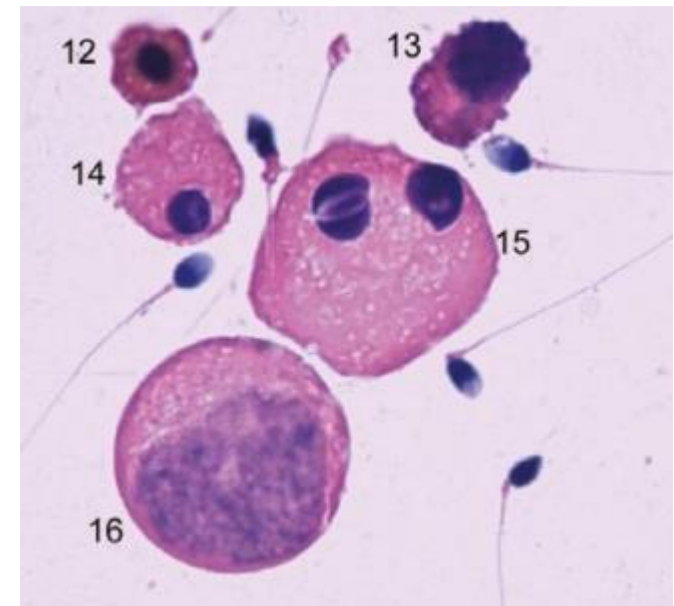
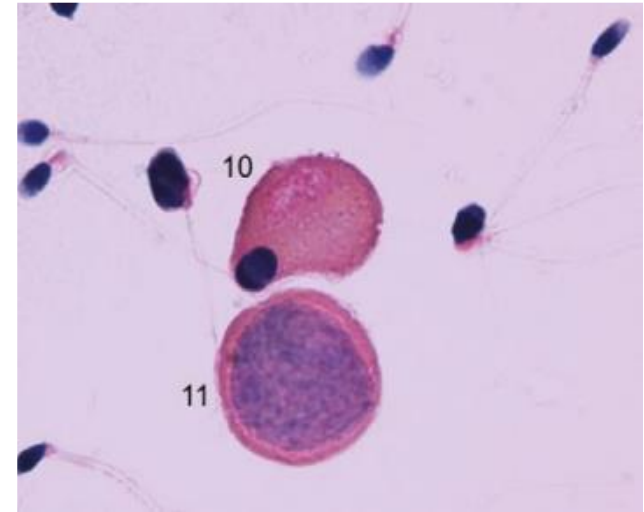
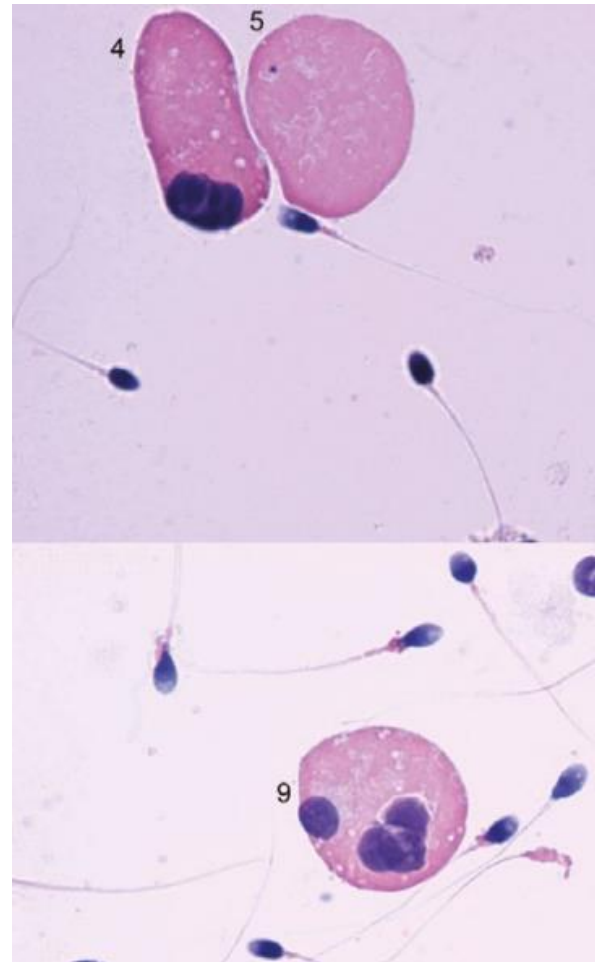
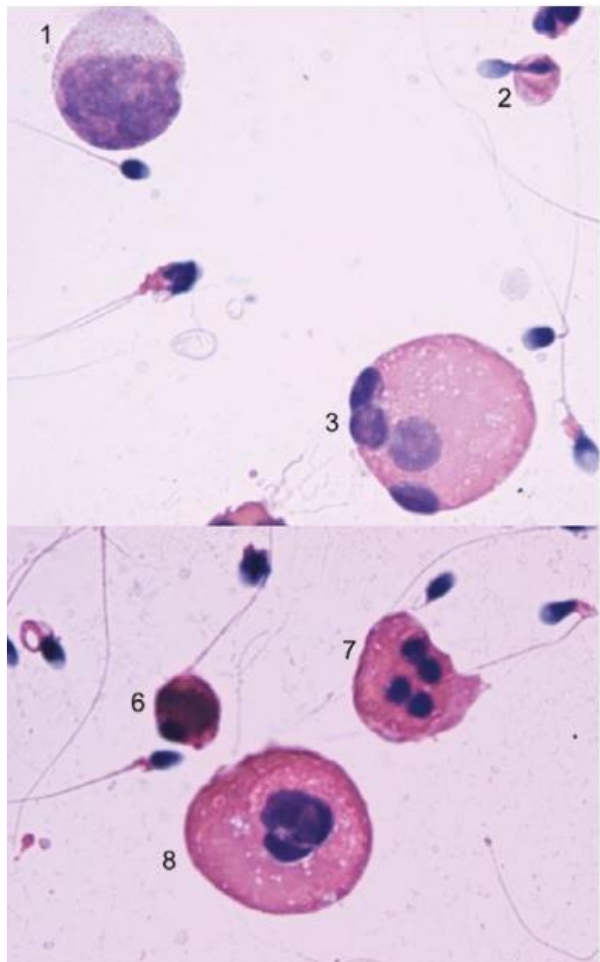
Krátký bičík



Cell	Cell type
1	macrophage
2	abnormal spermatozoon
3	(dividing) spermatid
4	(dividing) spermatid
5	cytoplasm
6	not classifiable

Cell	Cell type
7	degenerating spermatid
8	degenerating spermatid?
9	degenerating spermatid
10	degenerating spermatid
11	macrophage
12	degenerating spermatid

Cell	Cell type
13	degenerating spermatid
14	degenerating spermatid
15	degenerating spermatid
16	macrophage

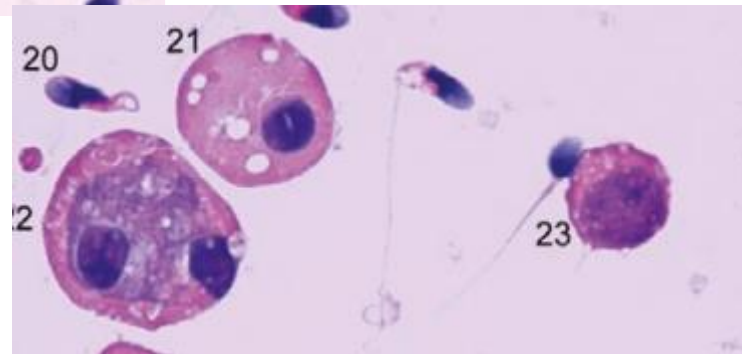
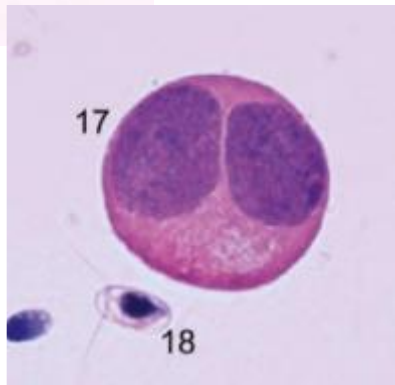
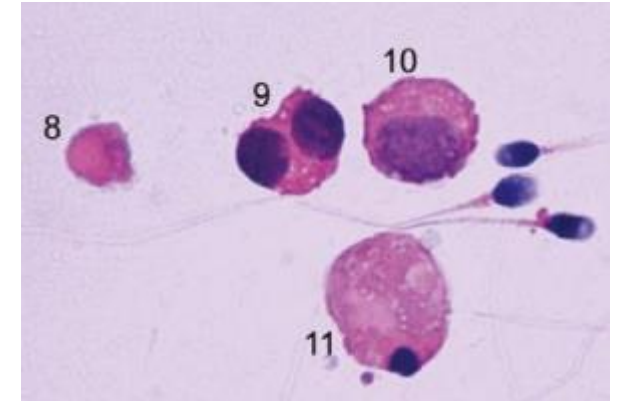
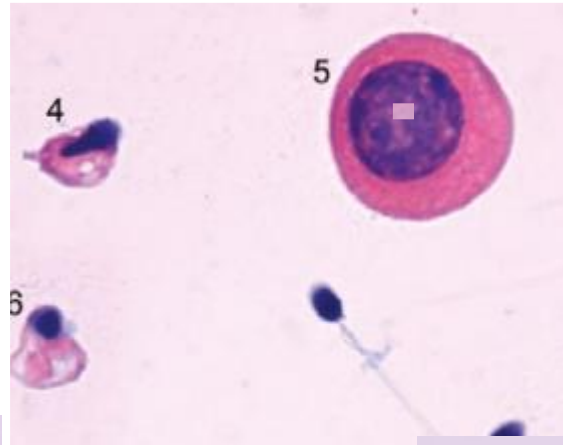
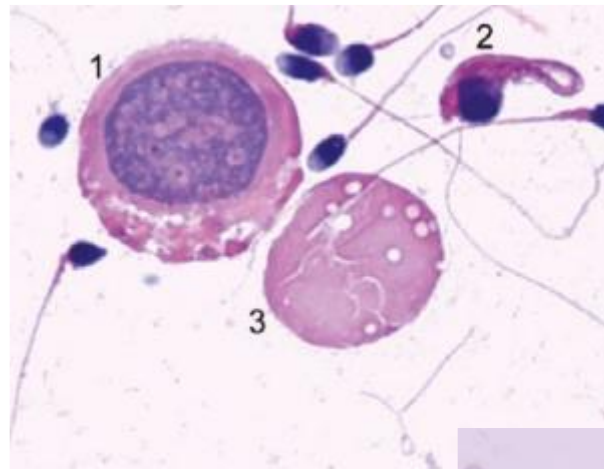
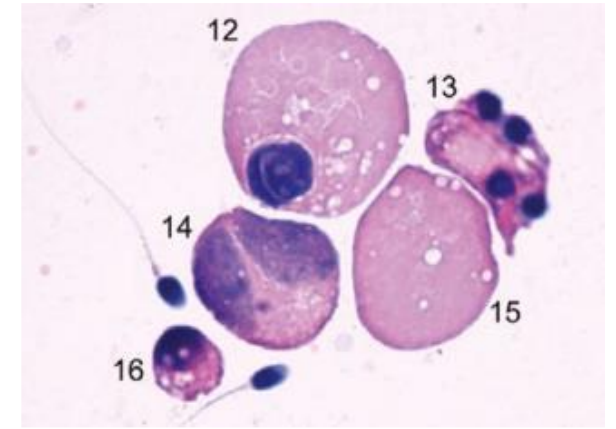




Cell	Cell type
1	macrophage
2	abnormal spermatozoon
3	cytoplasm
4	abnormal spermatozoon
5	spermatocyte
6	abnormal spermatozoon
7	abnormal spermatozoon? loose head on cytoplasm?
8	cytoplasm

Cell	Cell type
9	dividing spermatid
10	spermatocyte
11	degenerating spermatid
12	spermatid
13	degenerating spermatid
14	dividing spermatocyte
15	cytoplasm
16	degenerating spermatid

Cell	Cell type
17	dividing spermatocyte
18	abnormal spermatozoon
19	cytoplasm
20	abnormal spermatozoon
21	spermatid
22	phagocytosing macrophage
23	spermatocyte
24	cytoplasm



# Morfologické abnormality

- Původ v mnoha případech neznámý
- **Funkční abnormality** –změny kondenzace chromatinu, defekty v akrozomové reakci, problémy s motilitou
- **Defekty spjaté s genetickými abnormalitami:** globozoospermie, syndrom makrocefalie spermií, mnohočetné abnormality bičíku, „bezhlavé spermie“
- Dříve byla morfologie uznávaným prognostickým faktorem plodnosti. Dnes je tato problematika široce diskutována a ve WHO manuálu je tento parametr v rámci vyšetření ejakulátu označen jako nejméně prognostický.

- Mikrocefalické hlavičky

hlava < 3,5  $\mu\text{m}$  na délku a < 2,5  $\mu\text{m}$  na šířku, často abnormality akrozomu a nižší pravděpodobnost oplození (i při ICSI), korelace se zvýšenou fragmentací DNA

- Syndrom totální globozoospermie

0,1 % neplodných mužů, zřejmě kombinace různých faktorů, ale výzkumem u sourozenců s totální globozoospermií byla nalezena asociace s mutací genu SPATA 16; další asociace s delecí DPY19L2 (chromosom 12)

- Zúžená hlavička

pravděpodobně způsobeno hypertermií – často asociace s vadnou insercí bičíku, abnormální cytoplasmatickou kapénkou a aneuploidiemi

- **Syndrom makrocefalických hlaviček (100%)**

- nepravidelné velké hlavičky, zvýšený objem jádra, abnormální akrozom, více bičíků(až 4), **aneuploidie a polyploidie**,
- zřejmě důsledkem nondijunkce chromozomů nebo defektní cytokineze během prvního nebo druhého meiotického dělení
- homozygotní mutace v centrální části distální oblasti dlouhého raménka chromozomu 19 (gen AURCK –podílí se na segregaci chromozomů a na cytokinezi během spermatogeneze)

- **Syndrom bezhlavých spermií (špendlíkovité hlavičky)**

Chyba při migraci distálního centriolu během spermiogeneze, defekt úponu hlavičky nebo střední části (příp. kombinace), genetická asociace nezjištěna

-po ICSI lze sledovat fertilizaci oocyty bez následného vývoje

# Enviromentální faktry

**Tabák a kanabinoidy** - závěry studií se liší, nicméně byl prokázán negativní efekt na kondenzaci chromatinu po užívání kanabinoidů

**Polychlorované bifenyly** - byl prokázán negativní efekt na morfologii spermií

**Teplota** - signifikantní pokles motility i morfologie, rizikový faktor je například horečka (efekt se projeví za několik dnů, kromě negativního vlivu na spermatogenezi a spermiogenezi dochází tedy snad i k remodelaci hlaviček v průběh transportu varletem)

**Obezita** - nebyl prokázán vliv na morfologii spermií

**Nádory varlete** - zvýšený výskyt mikrocefálií, akrosomových defektů, zkrácených bičíků nebo cytoplasmatických kapének; mechanismus vlivu zřejmě souvisí se souvisejícími faktory (rakovina varlat je často asociována s jiným onemocněním varlat (kryptorchismus, syndrom dysgeneze varlat , stres..)

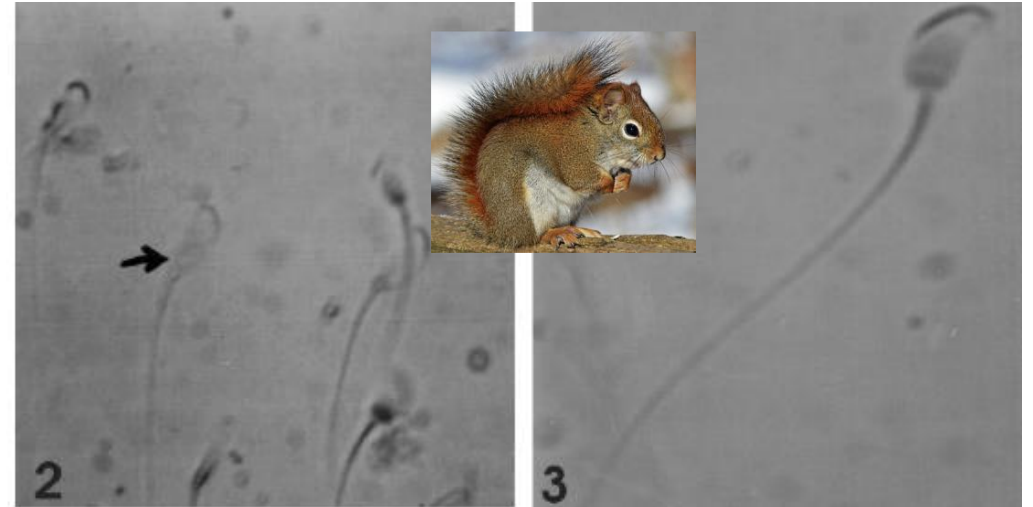
**Varikokéla** – prokázán pokles normálních forem spermií (svinuté bičíky)

**Urogenitální infekce** - signifikantní pokles podílu normálních forem u infekce *Ureoplasma urealyticum*

# Mezidruhové rozdíly

Mezidruhové rozdíly ve tvaru hlavičky:

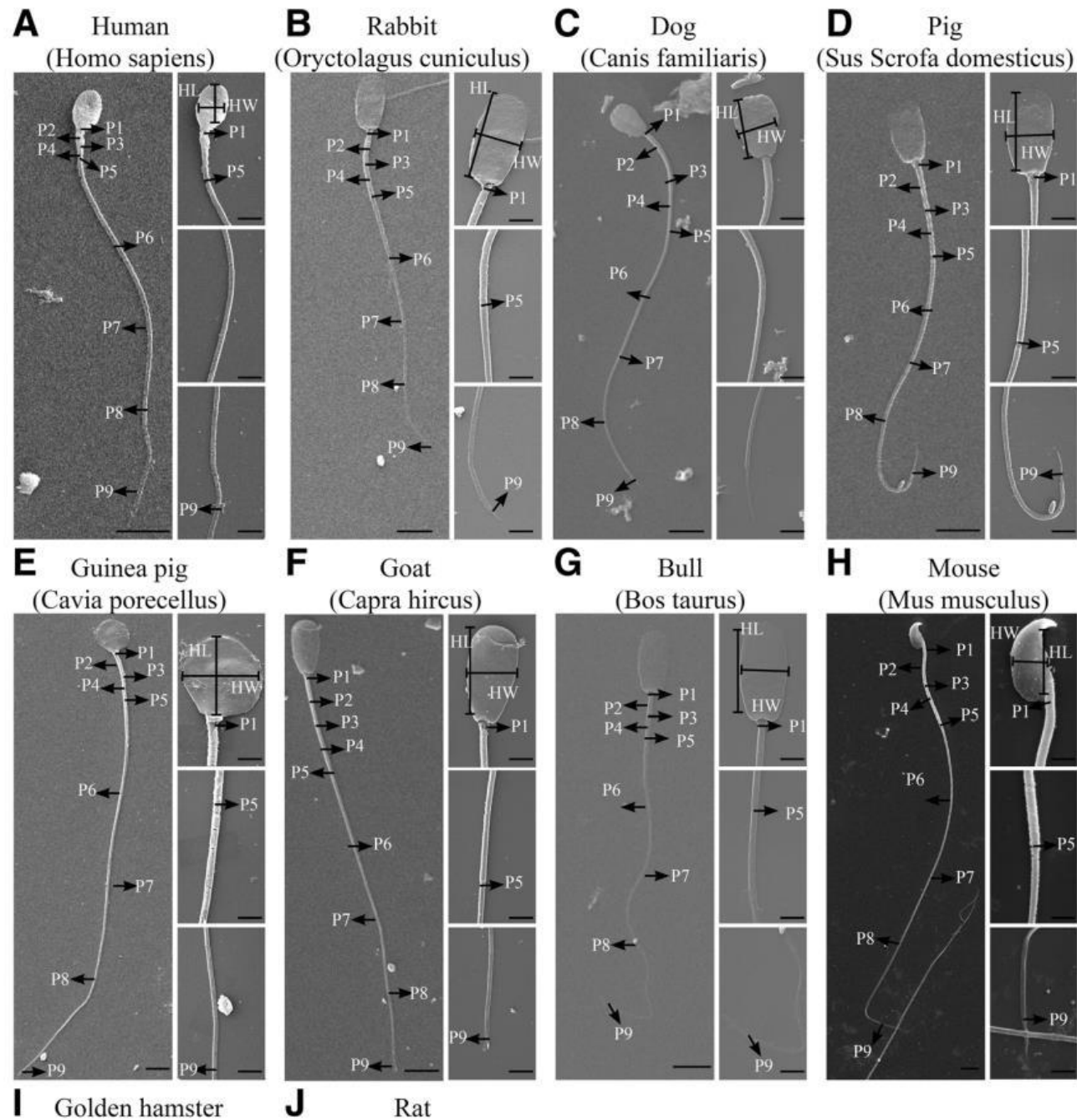
- Oválný tvar –kanec, býk, hřebeč
- kulaté-primáti
- falciformní-hlodavci
- hlavičky s velkým akrozomem-veverky



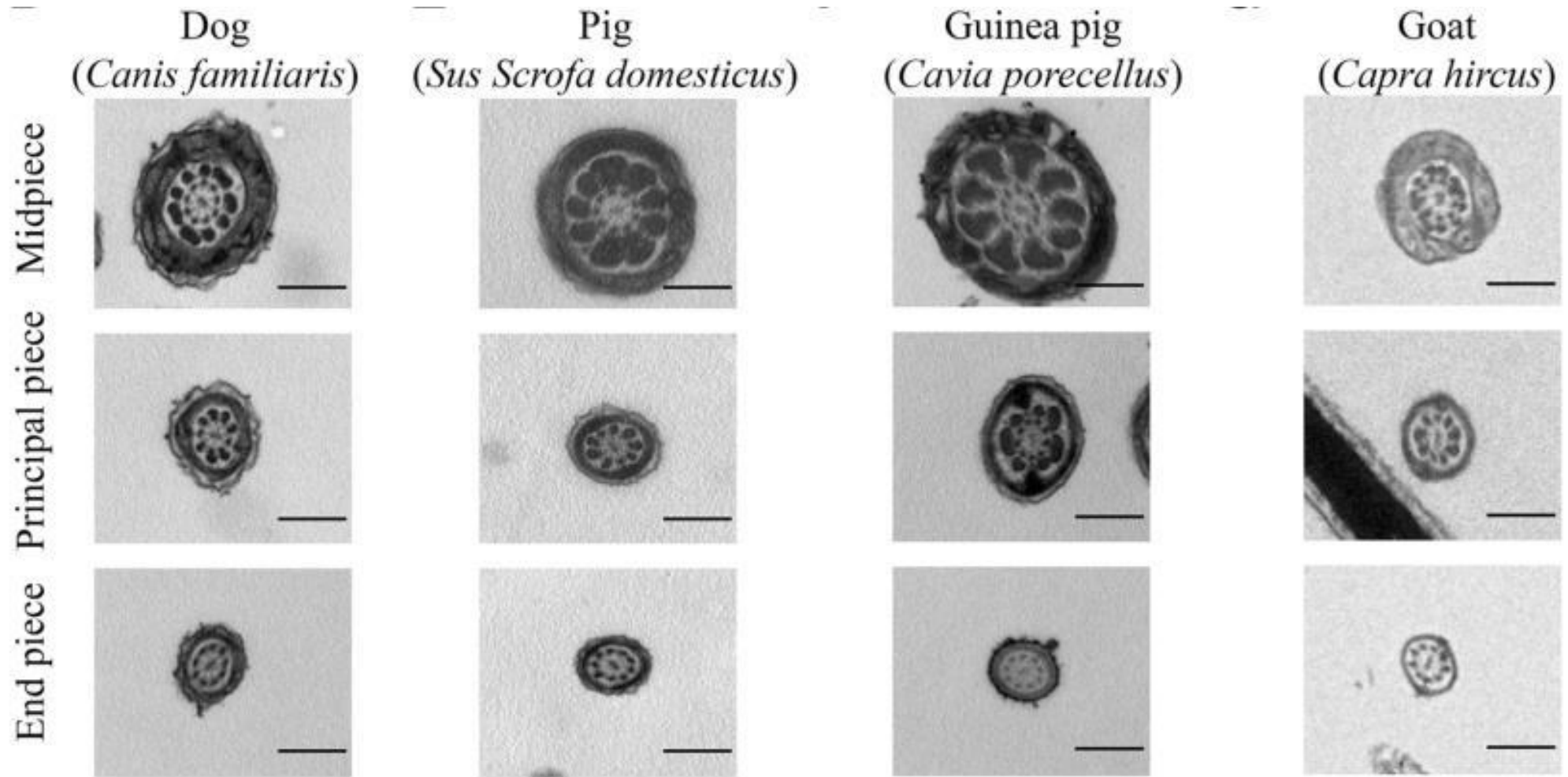
[PDF] SPERM STRUCTURAL AND MOTILITY CHANGES DUE TO AN ANTI-CANCER DRUG CYCLOPHOSPHAMIDE IN MALE SQUIRREL FUNAMBULUS PENNANTI (WROUGHTON) | Semantic Scholar

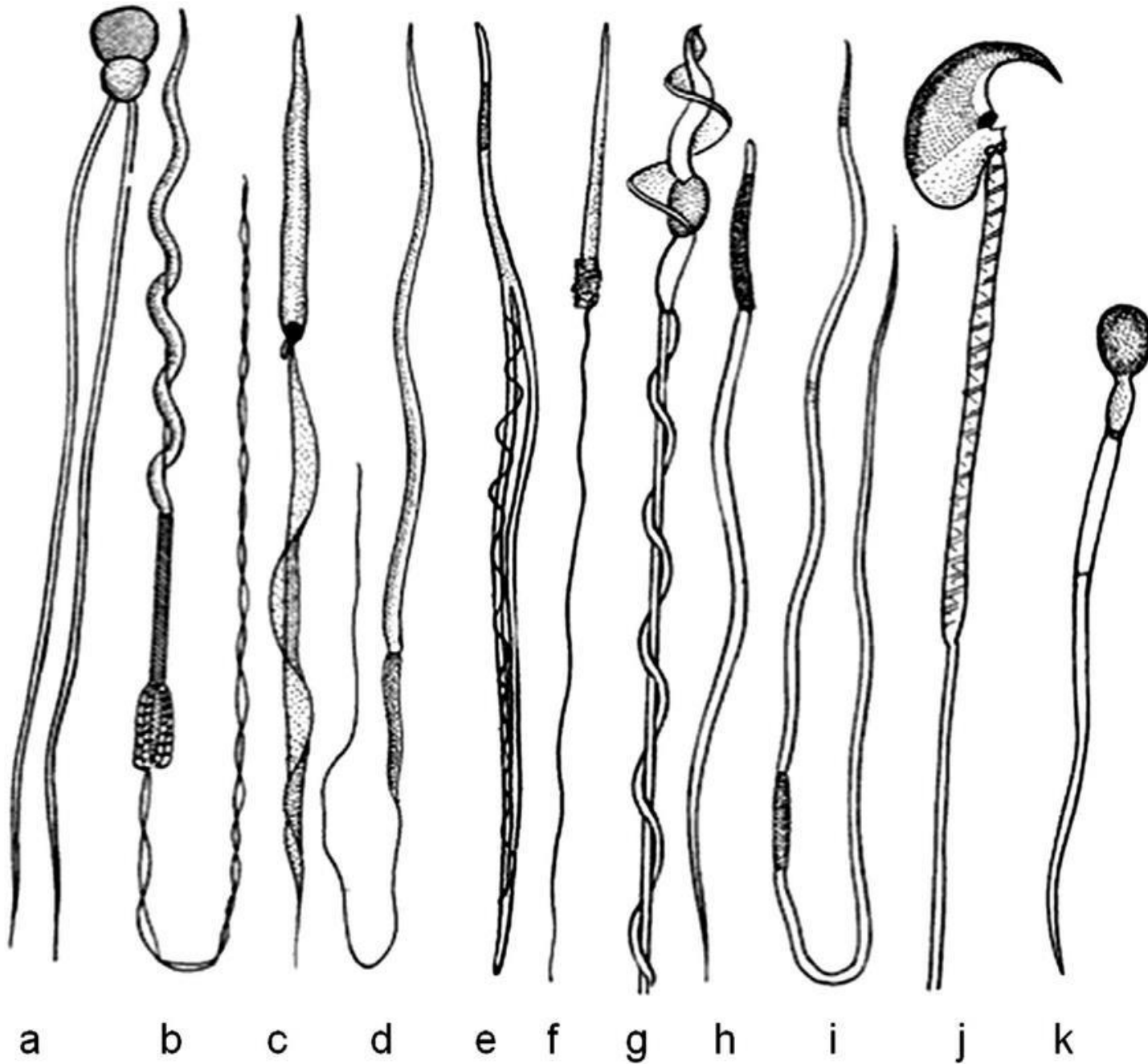
- Další rozdíly jsou v délce bičíku a v morfologické ultrastruktuře mitochondriální spirály (člověk 10-12 gyrů, pes 15-17 gyrů, myš 97 gyrů) nebo ve vnějších denzních vláknech bičíku
- Axonema je mezidruhově poměrně konzervativní











- a: toadfish
- b: paryba
- c: ropucha
- d: žába
- e: mlok
- f: ještěrka
- g: pěnkava
- h: kur domácí
- i: ježura
- j: myš
- k: člověk

