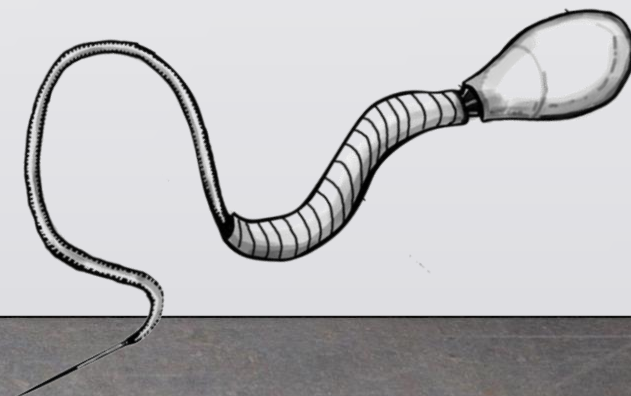




VADY SPERMÍ – CO JE DOBRÉ VĚDĚT

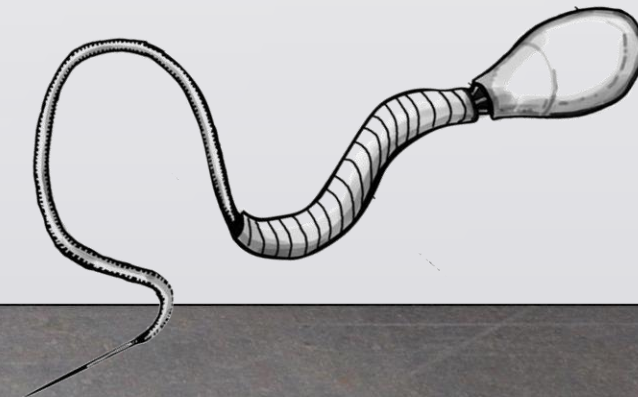
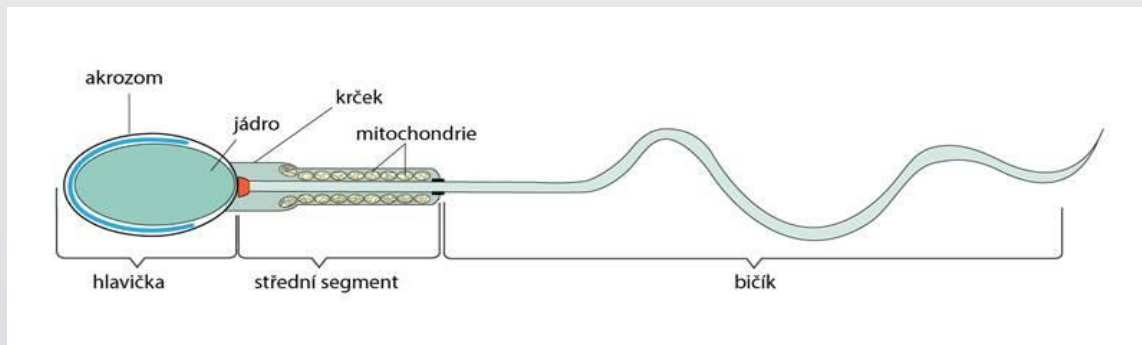
Ing. Zuzana Biniová, Ph.D.



NORMÁLNÍ SPERMIE

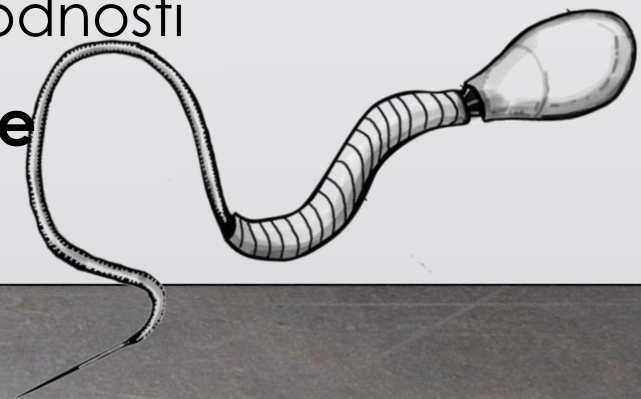
- **Cytoplasmatická membrána**
- **Hlavička**
 - jádro s DNA (30 chromosomů)
 - akrozóm (enzymy)

- **Krček**
 - Spojuje hlavičku a bičík
 - proximální a distální centriola
- **Bičík**
 - Střední část + bičík
 - 2 centrální vlákna + 2 x 9 párových obvodových mikrotubulů
 - Mitochondrie



MORFOLOGIE A PLODNOST BÝKA

- **Aktivita spermií jako „nejznámější“ ukazatel**
- **Morfologie = zásadní vliv na plodnost**
 - ⇒ Vady bičíků a hlaviček – negativní korelace k aktivitě
 - ⇒ Celistvost membrány – negativní korelace k aktivitě a oplozovací schopnosti
 - ⇒ Narušená integrita DNA – negativní korelace k plodnosti
 - ⇒ Podíl spermií s normální stavbou – pozitivní korelace k plodnosti
- **Patologické, abnormální spermie = jakékoliv spermie s vadnou stavbou**



EMBRYONÁLNÍ VÝVOJ VE ZKRATCE

- **2 – 3 měsíc pohlavní cesty**

⇒ ranná diferenciace od 41 dne březosti po expresi SRY genu uloženém na chromosomu Y

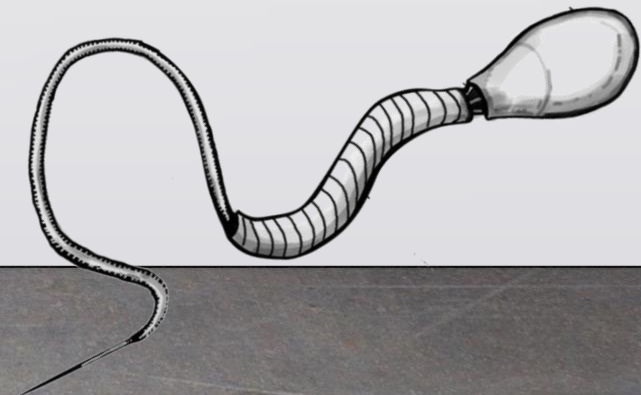
⇒ **Semenotvorné kanálky** = spermatogonie + Sertoliho buňky (ochrana a výživa všech stádií při vývoji spermií 40 – 50 den)

⇒ **Leydigovy buňky**: produkce testosteronu (od 60 dne)

- **3 – 4 měsíc zevní pohlavní orgány**

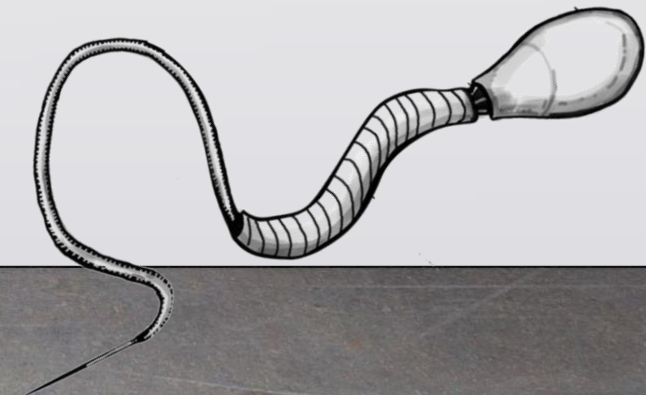
- **4 – 7 měsíc diferenciace hypotalamu**

- **Na konci březosti sestup varlat do šourku (přežvýkavci)**



PLODNOST A EMBRYONÁLNÍ VÝVOJ

- **výživa a kondice matky v průběhu březosti ovlivňuje nástup puberty a plodnost u potomka**
 - ⇒ nedostatek proteinu 1-180 den březosti = menší varlata, pozdější nástup puberty
 - ⇒ obézní matky – ukládání tuku u potomstva (šourek - narušená spermiogeneze)
- **Infekce (transplacentární), intoxikace, hormonální nedostatečnost v průběhu březosti** – nevyvinutá varlata (hypoplasie), subfertilita/sterilita. **I mírná hypoplasie - přenos vady na potomstvo, včetně samičího (postihuje vaječníky)!**
- **Freemartinismus** – dopad i na býčky – hypoplasie, nižší koncentrace spermií.
- **Kryptorchismus** (nesestoupení varlat o šourku)





DOSPÍVÁNÍ

- **Růst varlat:**

- ⇒ **do 6 m. pomalá prepubertální fáze** (FSH: podpora vývinu Sertoliho buněk)

- ⇒ **6-12 m. rychlá pubertální fáze** (LH: stimulace Leydigových buněk a prod. testosteronu)

- ⇒ **Pomalá postpubertální a dospívací fáze** (2 roky - 90 % hm. varlat, 4-5 r. - 100 %)

- **Tvorba spermií = Spermatogeneze:**

- ⇒ **spermatocyty (2n): 4 - 6 měsíců**

- ⇒ **spermatidy (1n): 6 - 7 měs.**

- ⇒ **puberta: 8 - 10 měs.** - když mladý býk vyprodukuje dostatek spermií k oplodnění plemenice (50 mil. + 10 % aktivita)



VLIVY

- **VÝŽIVA**

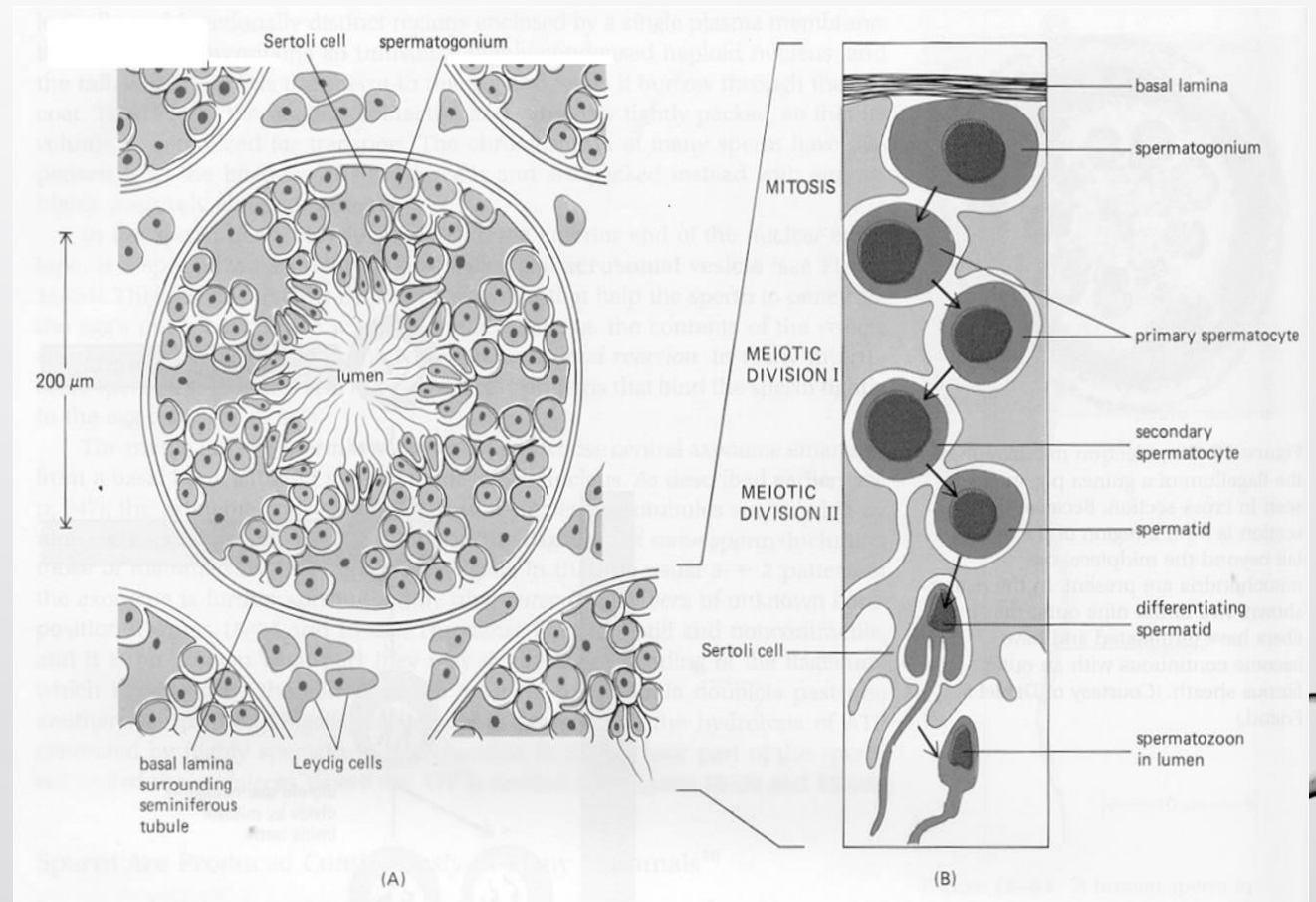
⇒ **Kvalitní výživa a vysoké dávky bílkovin ve věku do 6 měsíců:** dřívější puberta, největší obvod šourku a hmotnost varlat (=vliv na produkce spermatu), vysoká hladina testosteronu (hrubý protein: nízká dávka 13,5 %, vysoká 15,1 % do 6 měs. AA, CH)

⇒ **Minerální výživa:** zinek, měď, mangan – snižují oxidativní stres (defragmentace DNA), Zn – syntéza testosteronu

- **VĚK:** v pubertě více vad spermií, u starých býků se zvyšuje výskyt (degenerace)

SPERMATOGENEZE = VZNIK A VÝVOJ SPERMIE

- 61 dní ve varlatech + 11 dní v nadvarleti
- 1 spermatogonie = 64 spermatid
- **Dozrání v nadvarleti** - hormony, membránové změny, absorpce tekutiny, stabilizace bičíku a jádra, translokace cytoplasmy)
- **Přídavné pohlavní žlázy** – konečné změny, metabolické substráty, transport
- **Spermatogenní vlny**



Vývoj spermií	Fáze vývoje	Abnormalita	Dny po
1-13,5	Ze tří mitotických dělení spermatogonií vznikají spermatogonie A a B.		58,5-71
14,5-27	Spermatogonie prodělají další 2 cykly dělení, poté vznikají primární spermatoc. a začíná dlouhý proces meiózy. V cytoplasmě se objevuje Golgiho apar. a další organely		45-57,5
28-40,5	Meióza pokračuje, na konci 3 cyklu dělení vytvoří každý primární spermatocyt 2 diploidní sekundární spermatocyty. Ty se rychle rozdělí, vzniknou 4 haploidní spermatidy		31,5-44
41,5-46,5	Z Golgiho aparátu se oddělí Golgiho váček, ve které se vytváří granula akrosómu. Nad jádrem se formuje čepička z akrozomálních granulí. Golgiho aparát migruje k distálnímu konci hlavičky a z distálního centriolu začíná vyrůstat bičík.		25,5-30,5
47,5-50,5	Jádro se prodlouží a začne se kondenzovat, v průřezu je stále kulaté. Cytoplasma se posunula distálně, takže Sertoliho buňky obklopují hlavičku. Kolem vyvíjejícího se bičíku je vidět membránové pouzdro a svazky vláken, které se prodlužují a formují konečnou část bičíku.	Stočené konce bičíků Hruškovité hlavičky	22-24
51,5-53	Jádro se zplošťuje s pokračující kondenzací jádra. Vytváří se postakrozomální pochva, membránové pouzdro se dále vyvíjí.	Vakuoly	20
52,5-54	Jádro je zcela zploštělé, akrozómová granula jsou nahrazena vyčnívající poloměsíčitou strukturou – apikálním hřebenem.	KA Prox. kapky	18
55-60,5	Sertoliho buňky pokračují v pohlcování cytoplasmy. Vlákná bičíku se zvětšují. Ve střední části vzniká hlavní spoj, kolem kterého se shlukují mitochondrie. Na krčku zůstává po kondenzaci mitochondrií proximální kapka. Je vytvořeno spojení mezi bází hlavičky a střední částí bičíku.	Poruchy mitochondrií Vlné hlavičky	11-15
61-71	Průchod nadvarlaty: Proximální kapka se posouvá na distální konec. Před nebo během ejakulace se ztratí. Dojde k dozrání spermie vlivem působení hormonů.	DMR Distální kapky	1-3 4-14

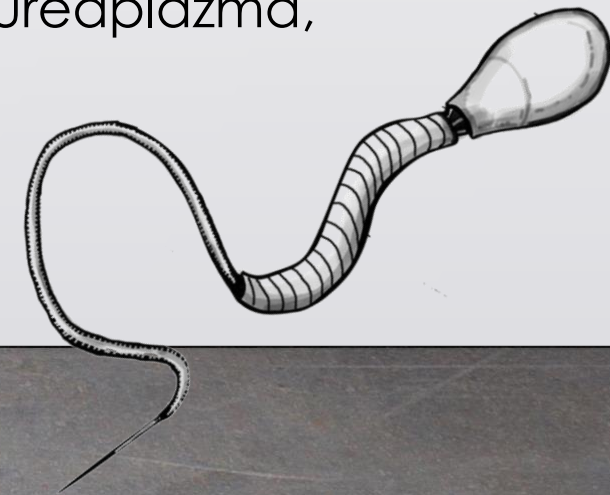
MORFOLOGICKÉ ZMĚNY SPERMÍ

- V důsledku degenerativních změn anebo nedostatečné funkce varlat/nadvarlat
- Typ patologické vady umožňuje určit, ve které části pohlavní soustavy došlo k zhoršené funkci
- V kombinaci s historií je možno stanovit prognózu pro daný případ
- I chyby v manipulaci s ejakulátem mají vliv na morfologii!

=> Vzorek je obrazem funkcí varlat a nadvarlat v posledních 10 týdnech

VLIVY

- **VÝŽIVA:** acidózy
- **TEPLOTNÍ STRES:** zásadní vliv na morfologii (varlata o 2 – 6 °C méně než TT)
- **STRES:** nemoci, bolest, transport, sociální stres
- **PLEMENO:** BM: horší kvalita, vyšší výskyt proximálních kapek, DMR, a vakuol – poruchy spermiogenze, menší šourky + vyšší citlivost na tepelný stres, citlivost na degeneraci parenchymu varlat.
- **INFEKČNÍ ONEMOCNĚNÍ – bakterie :** mykoplasma, ureaplazma, streptokoky,
Viry: BVD (diadém efekt), herpes, BRSV, **parazité:** tripanosoma



VADY SPERMÍÍ

- **Různé metody stanovení**

⇒ nejčastěji eosin-nigrosin, novější CASA a ve vývoji umělá inteligence pro stanovení některých vad souběžně s hodnocením aktivity

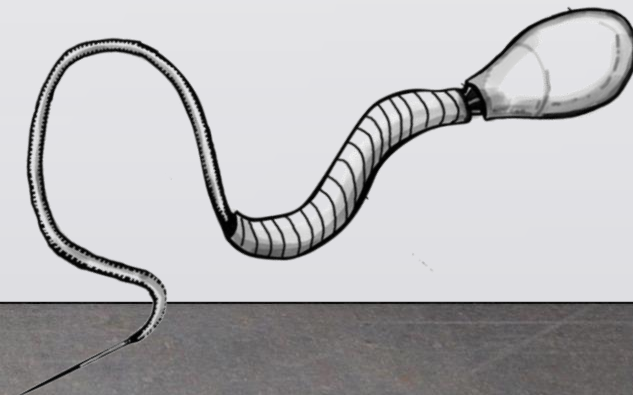
- **RŮZNÉ KLASIFIKACE**

⇒ Primární x sekundární

⇒ Malé a velké (významné a méně významné)

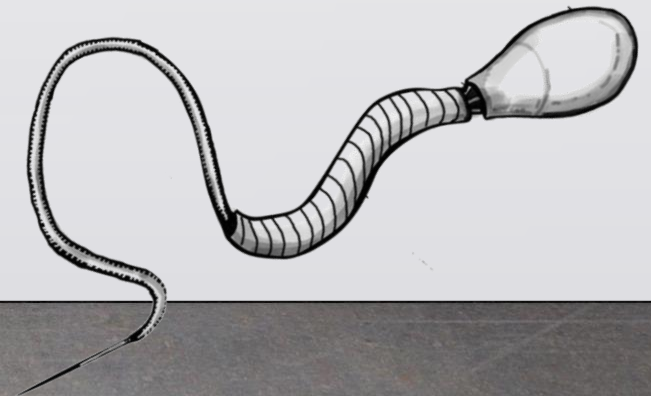
⇒ Kompenzovatelné x nekompenzovatelné

- **Geneticky podmíněné**



PRIMÁRNÍ A SEKUNDÁRNÍ VADY

- **Klasifikace na základě „místa“ vzniku vady**
 - ⇒ Primární vady – vznik v průběhu spermatogeneze
 - ⇒ Sekundární vady – vznik po ukončení vývoje spermie
- **Primární vady mají větší vliv na plodnost býka**
- **Sekundární vady jsou ve výskytu variabilnější a méně pravidelné**



MALE A VELKE VADY / významne a mene významne

- **Klasifikace na základě dopadu na plodnost**

⇒ Malé vady – omezený vliv na plodnost

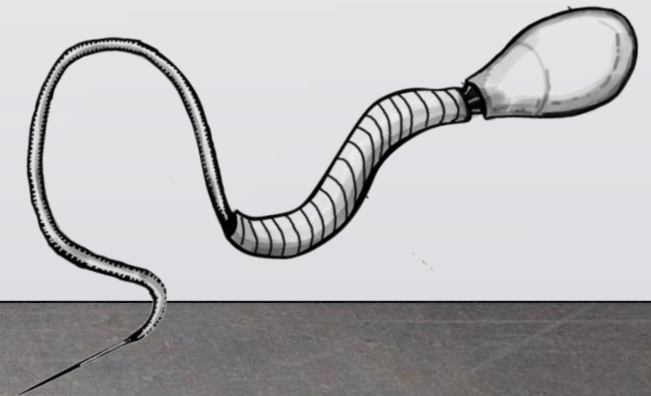
⇒ Velké vady – prokázán vliv na zhoršení plodnosti

- * většinou primární defekty

- * výskyt v podstatném množství (10-15 %) v ejakulátu

- * Pravidelný výskyt

- * Mohou být dědičné

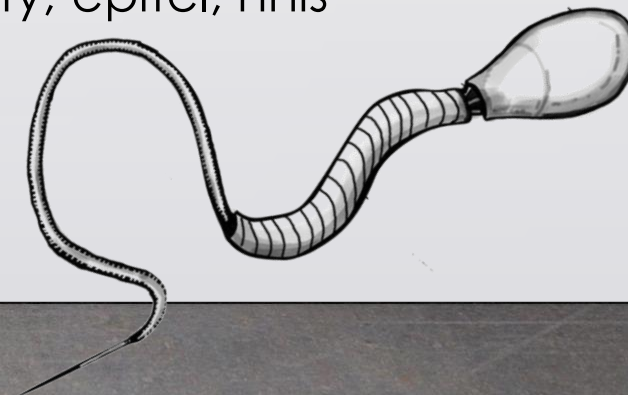


Významné vady

- Nedovyvinuté spermie, vakuoly
- Dvojité formy (hlavičky, bičíky)
- Defekty akrozómu
- Diadém efekt
- Vady hlaviček: hruškovité, zúžené při bázi, nepravidelný tvar, velmi malé, volné s rudimenty bičíku
- Defekt vývrtkovité spojovací části
- Proximální kapky, pseudokapky
- Silně stočené bičíky, Dag efekt

Méně významné vady

- Hlavičky: úzké, malé normální, volné normální, uvolněné akrozómy
- Abaxiální připojení bičíku
- Distální kapky
- Jednoduše stočený bičík
- Bičík zkroucený na konci
- Přítomnost dalších buněk (leukocyty, erytrocyty, epitel, hnis apod.)



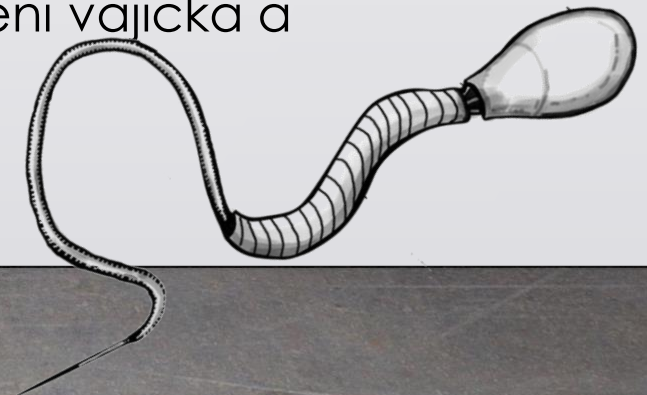
KOMPENZOVATELNÉ A NEKOMPENZOVATELNÉ VADY

- **Snížená plodnost:**

- 1) Spermie neschopné transportu k vajíčku
- 2) Neschopné oplodnit vajíčko i když se k němu dostanou
- 3) Oplodní vajíčko, ale to není schopno dokončit embryonální vývoj

- **Kompenzovatelné vady (1+2)** – problém s plodností je možno kompenzovat zvýšeným počtem spermií, např. v inseminační dávce

- **Nekompenzovatelné (3)** – vady, které způsobují selhání v oplození vajíčka a rannou embryonální mortalitu.

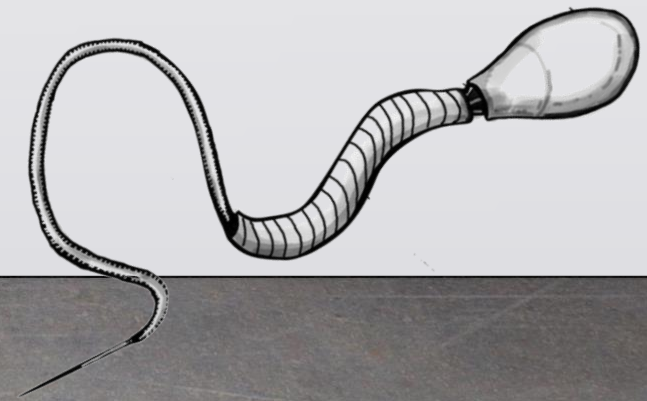


Nekompenzovatelné (max. 20%)

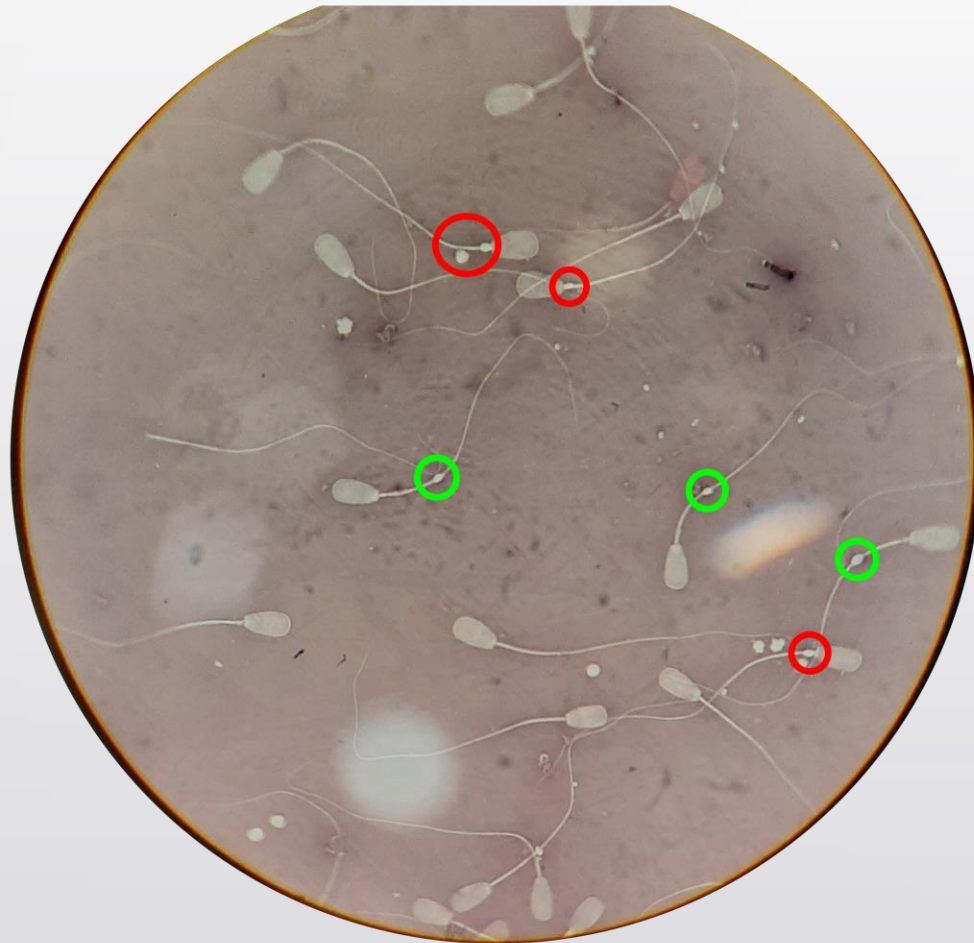
- Proximální cytoplasmatické kapky
- Hruškovité a protáhlé hlavičky
- Knoflíkovitý (knobbed) akrozóm (korálkovitá forma)
- Vakuoly
- Kulovité hlavičky
- Syndrom gigantických hlaviček

Kompenzovatelné (max 30 %)

- Knoflíkovitý (knobbed) akrozóm (plochá a prohnutá forma)
- Zbobjtnalý akrozóm
- Vakuoly – apikální
- Vady střední části (DMR, dvojité stočený bičík, abaxiální bičíky, pahýlovitý bičík, segmentální aplázie)
- Volné hlavičky
- Vady bičíku



Proximální vs. distální kapky



- **Proximální kapky**

⇒ Vliv věku

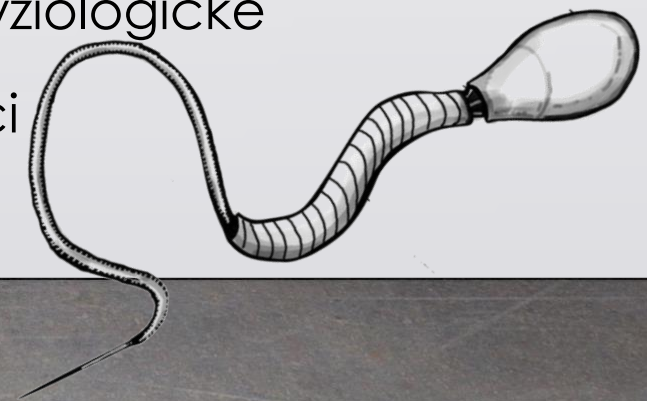
⇒ u dospělých znakem abnormální spermiogeneze - tepelný stres, acidózy

⇒ Predispozice některých plemen

- **Distální kapky**

⇒ Nemají vliv na plodnost, fyziologické

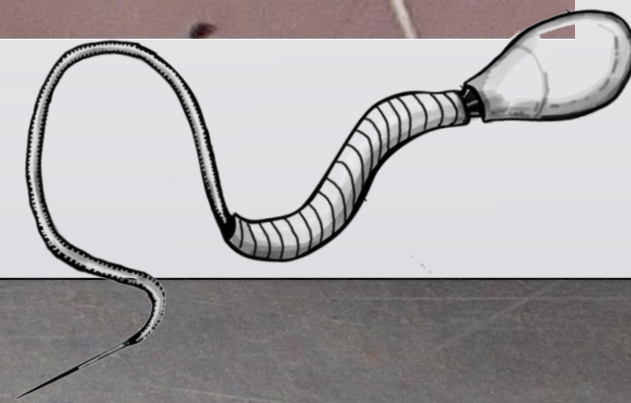
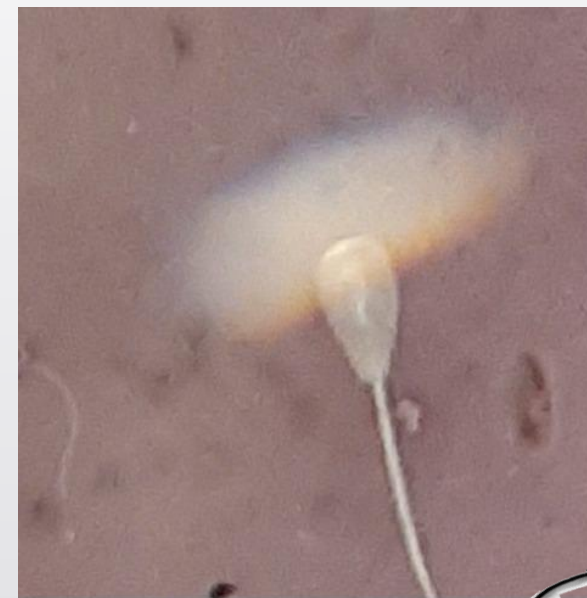
⇒ Uvolnění při a po ejakulaci



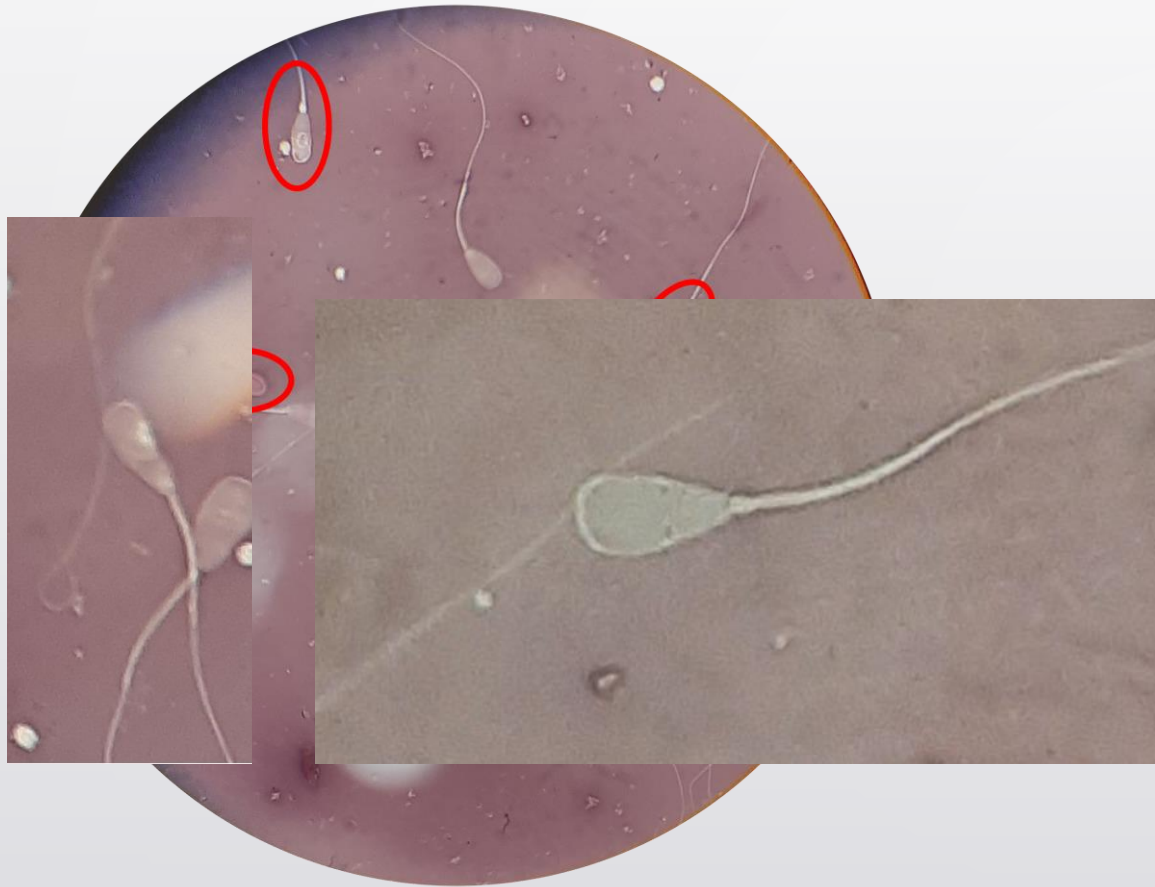
Knobbed acrosome/knoflíkovitý akrozóm



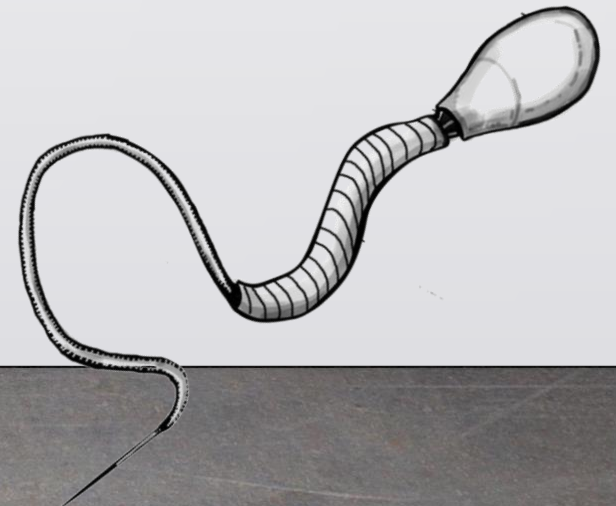
- koráلكovitá forma vs plochá a prohnutá forma.
- Spojeno s poruchami celistvosti membrány a předčasnou kapacitací a akrozómovou reakcí
- Geneticky podmíněné (někdy)



Vakuoly



- Normální aktivita
- Predispozice některých býků (hormonální řízení, stres, tepelný stres)

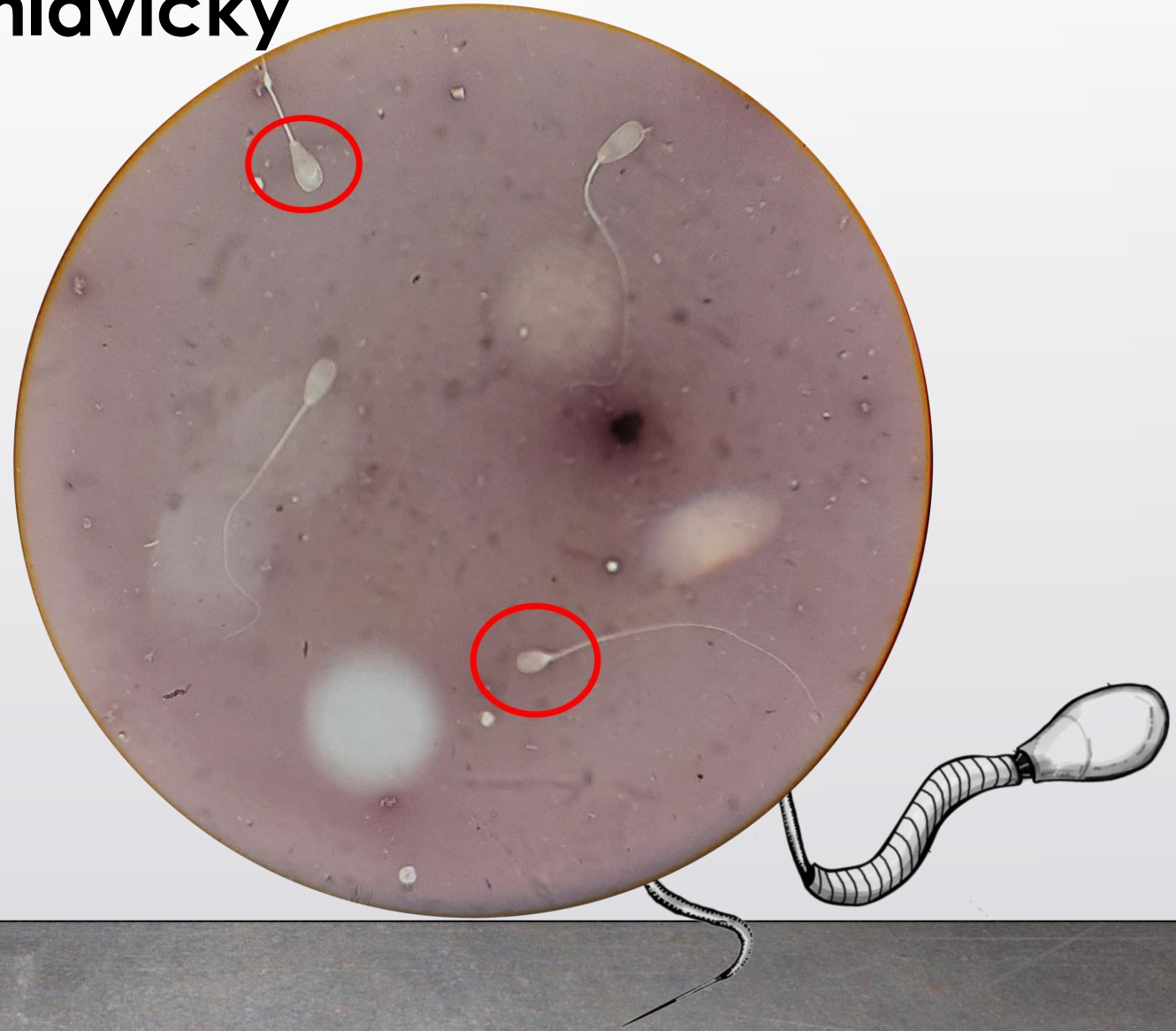


Hruškovité a protáhlé hlavičky

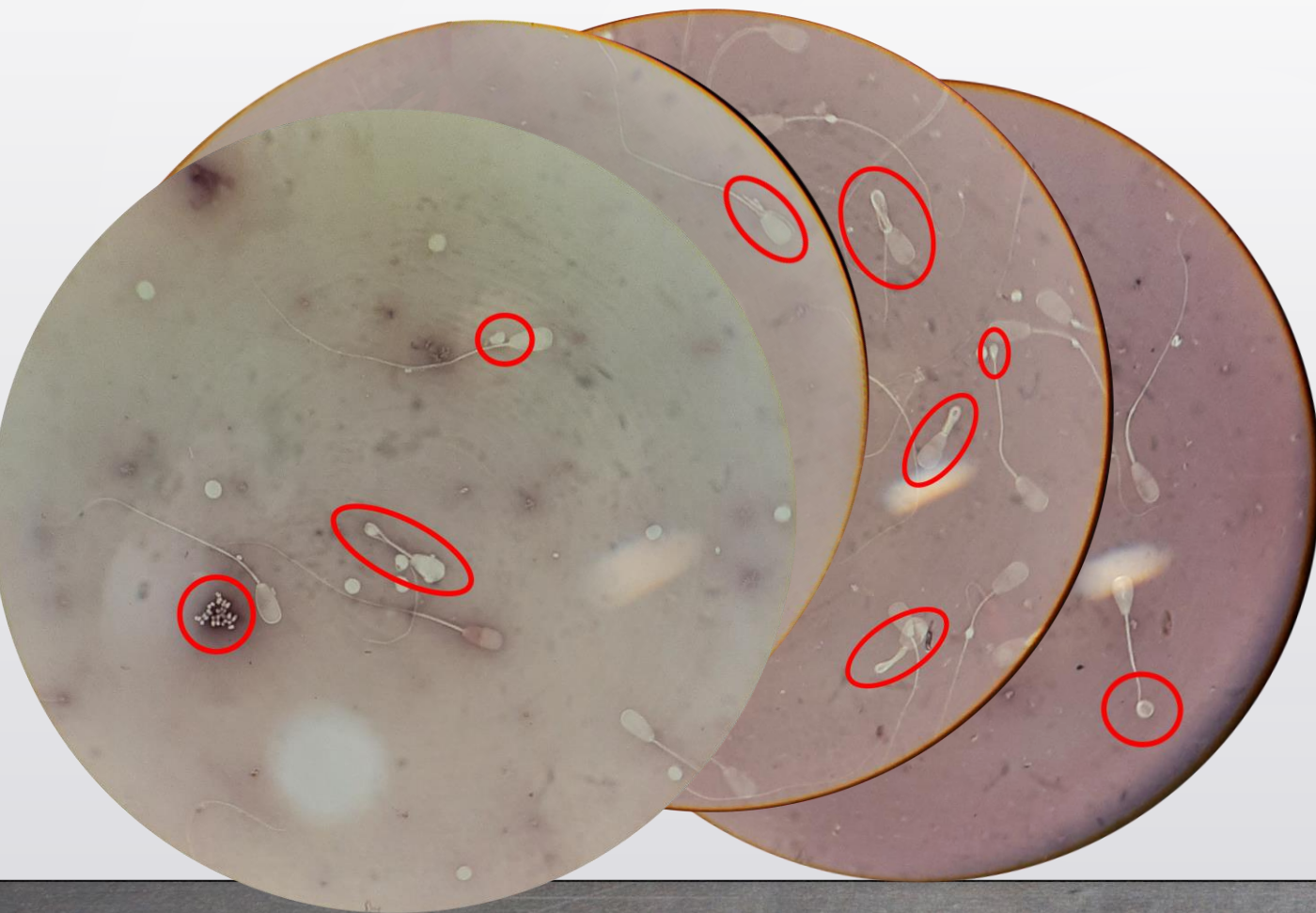
- **Hruškovité hlavičky**

⇒ Při výskytu bez dalších vad může jít o normální stav

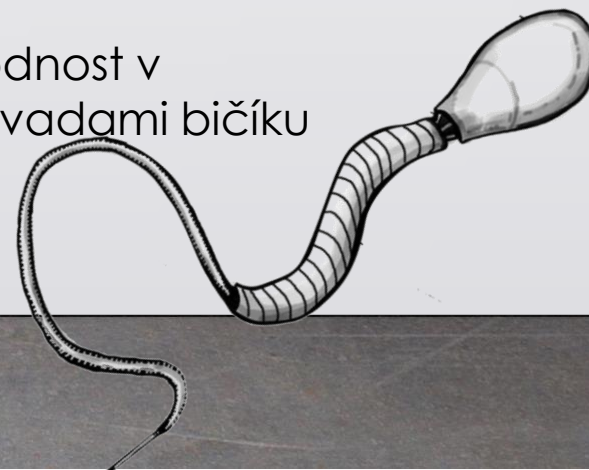
⇒ Výskyt s dalšími vadami = degenerativní změny tkáně.



Vady bičíku a střední části

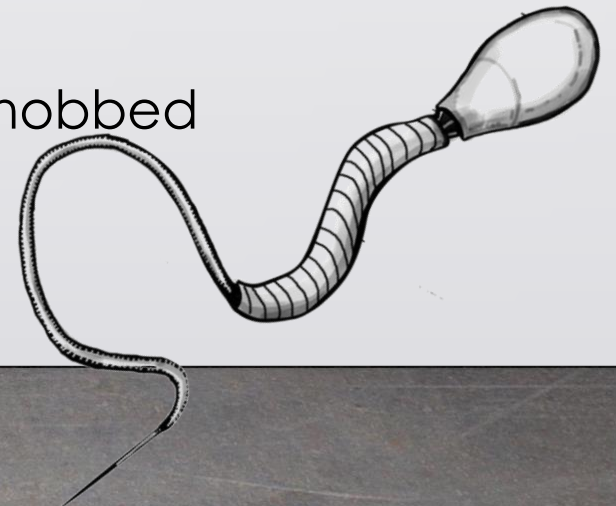


- **Vady koncové části bičíku** - obvykle sekundární vady
- **DMR** – často vlivem stresu, nízké hladiny testosteronu, počasí, vznik v nadvarleti
- **Několikrát stočený bičík (DAG efekt)** – běžně do 4 %
- **Stočená koncová část bičíku** – stres, abnormální termoregulace varlat, může být sekundární vznik
- **Abaxiál** – vliv na plodnost v kombinaci s dalšími vadami bičíku

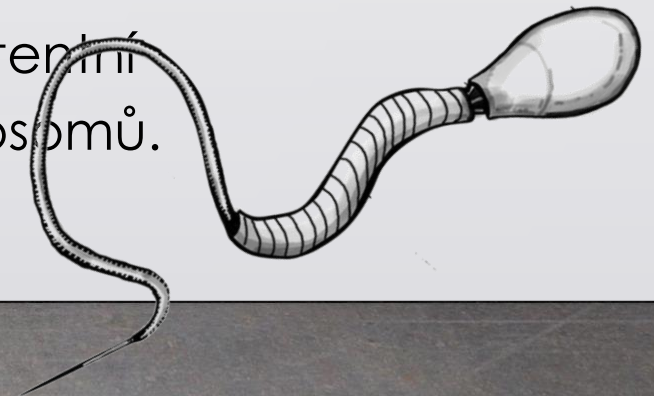


GENETICKY PODMÍNĚNÉ VADY SPERMÍÍ

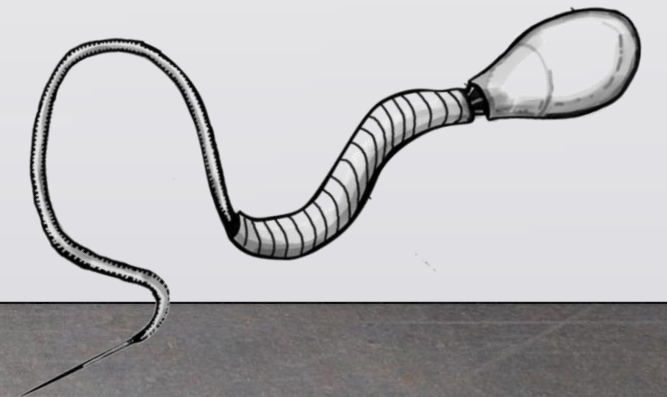
- Některé inbrední linie – více defektů spermií
- Inbreeding – větší množství abnormálních semenotvorných kanálků
- Některé vady se projeví jen při interakci genotyp x prostředí
- **Knobbed acrosome (korálkovitá forma)** – aberdeen angus, charolais – dlouhodobý výskyt ve významném množství při absenci dalších vad spermií.
- **Nepravidelné a narušené akrozómy** - spojené s výskytem knobbed akrozómů



- **Abnormální kondenzace DNA** - simentál - Obtížné stanovení + nákladné (flow-cytometrie). Vyšší výskyt v letních měsících = příklad interakce genotyp x prostředí.
- **Dekapitované spermie** - hereford, guernsey - oddělené hlavičky a bičíky, často v důsledku různých vlivů při spermiogenezi a zrání spermie. Při geneticky podmíněném výskytu je postiženo 80-100 % spermií a bičíky se hýbou.
- **Kulovité hlavičky** – genetický přenos zjištěn u mužů, spojen s výskytem vakuol a volných akrozómů.
- **Syndrom velkých hlaviček** – při genetickém založení konzistentní spermioqram s četným výskytem, obsahují 2-4 sady chromosomů.



-
- **Dag efekt** – hereford - silně stočený bičík a zlomená distální část spojovací části spermie. Do 4 % v normálním vzorku, při výskytu 50 % vážný dopad na plodnost
 - **Defekt vývrtkovité spojovací části** - nerovnoměrné uložení mitochondrií, neplodnost.
 - **Pahýlovitý bičík** – Shorthorn – nedovyvinutá střední část a bičík u většiny spermií, nízké koncentrace spermií. Při 25 % předpoklad genetické vady, býci s 30 – 40 % jsou stále plodní. Někdy možná záměna s volnými hlavičkami





ANI MORFOLOGIE NENÍ VŠE...

- **Klinicky zdravý býk + normální aktivita spermií + normální koncentrace + normální morfologie = snížená plodnost/sterilia**
- **Proč?**
- **Důvody hledejme na molekulární úrovni - geny**

A CO JE TEDY DOBRÉ VĚDĚT?

- Potenciál pro produkci a kvalitu spermatu je podmíněn již v prenatálním období – chovatel má možnost ji ovlivnit už výživou matky.
- Morfologie má zásadní vliv na plodnost býka – ale je proměnná v čase a existuje řada vlivů – býky s nevyhovujícími vzorky je potřeba vždy hodnotit s časovým odstupem.
- Řadu vad lze kompenzovat např. zvýšením počtu spermií v inseminační dávce
- Podle typu vady lze v některých případech určit kdy a kde vznikla a stanovit prognózu
- I spermie aktivní s normální morfologickou stavbou mohou mít sníženou oplozovací schopnost – poruchy na úrovni genů
- Řada vad spermií je geneticky podmíněna, jsou přenosné na potomstvo





Děkuji za pozornost