



SPERMIOLOGIJA

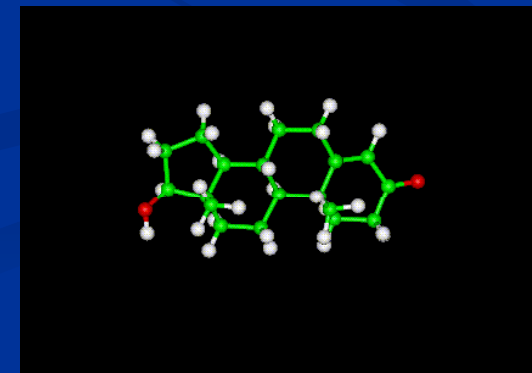
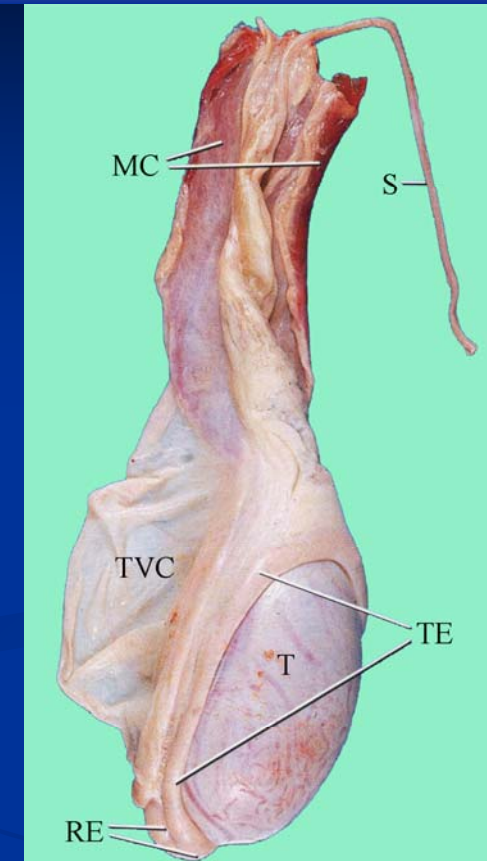
Doc. dr. sc. Marko Samardžija

Klinika za porodništvo i reprodukciju

Veterinarski fakultet Zagreb

SPERMIOGENEZA

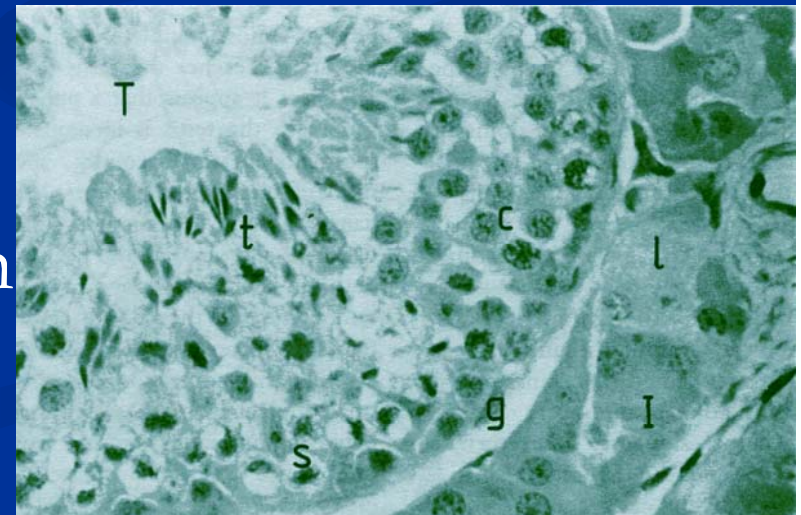
- u testisima
- primarni organi rasplodnje muškaka:
 - a) produkcija spermija
 - b) produkcija androgenih hormona



SPERMIOGENEZA

Osnova za nastanak spermatogonija gonociti i **potporne stanice** (sjemeni kanalići)

- U 7. mj gravidu plodu diferencijacija gonocita u spermatogonije
- 2mj poslije teljenja iz potpornih nastaju Sertolijeve stanice



SPERMIOGENEZA

Period prije puberteta

- sjemeni kanalići ispunjeni su germinativnim i
- dr. nediferenciranim stanicama
- nemaju šupljinu



nema uvjeta za spermioogenezu !

SPERMIOGENEZA

- Počinje spolnom zrelošću (nije rasplodna zrelost)
- Završava staračkom atrofijom testisa
- Odvija se:
 - kontinuirano
 - pretežno u sezoni tjeranja

PUBERTET

- Mijenja se germinativni epitel i nastaje epitel karakterističan za spolno zrele rasplodnjake
- Iz germinativnih st. u sjemenim kanalićima (*tubuli seminiferi*) serijom:
 - mitotičkih dioba ↘
 - mejotičkih dioba ↘
 - metarmozom ↘
 - spermiji**

SPERMATOGONIJE

- Male stanice, najčešće okruglog oblika, promjera 10 do 14 μm .
- S jezgrom (u citoplazmi) promjera oko 2 μm ispunjena:
 - finim kromatinskim granulama (kao i somatske st.) i
 - kristalima (tzv. Luburschovi kristali).

RAZVOJNI TIPOVI SPERMATOGONIJA

1. **A** spermatogonije
2. Intermediarne
3. **B** spermatogonije



spermatocyte I reda

PODJELA SPERMATOGONIJA

Nastaju:

A1 i A2 spermatogonije (rel. velike $12\mu\text{m}$)

- velika ovalna jezgra ($8\ \mu\text{m}$).

- poput spužve (šupljikava \Rightarrow granula kromatina)

- sadrže diploidan broj kromosoma

MITOTIČKA DIOBA SPERMATOGONIJA

A1 spermatogonija

- ostaje nepromijenjena i miruje
- pričuva za sljedeći ciklus spermiogeneze
- sljedeći ciklus počinje tek kad iz B spermatogonija nastaju spermatoцити

SPERMIOGENEZA

- spermatogonija A2

dijeli se u:



2 intermediarne spermatocite



4 B1 spermatocite

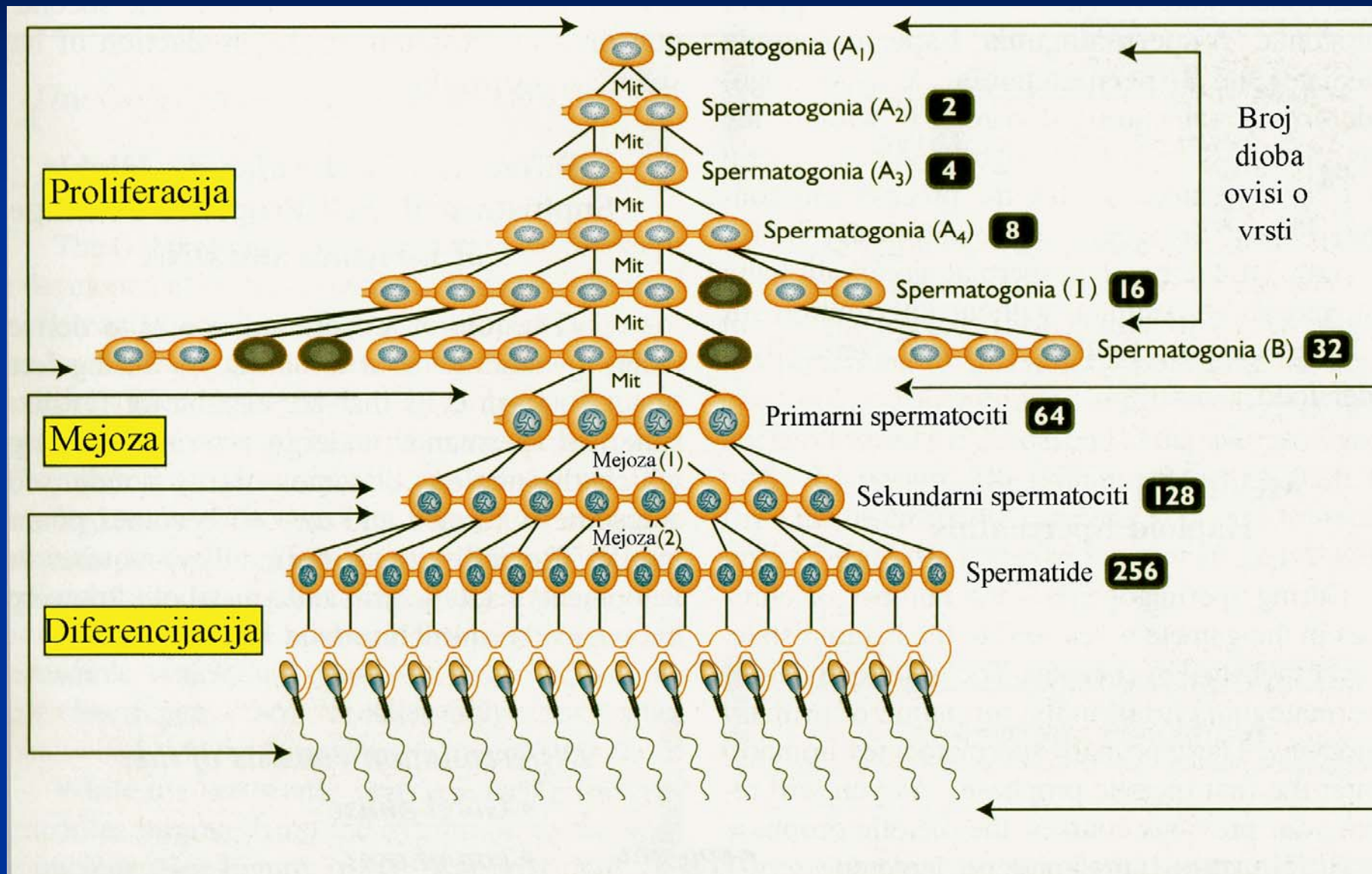


8 B2 spermatocita



16 spermatocita I reda

SHEMA SPERMIOGENEZE



SPERMIOGENEZA

Mitoza

spermatogonija ⇒ 16 primarnih spematocita

15-17

Dana

I Mejoza

Primarni u ⇒ sekundarne spermatocite
(haploidni br. kromosoma)

oko 15
dana

II Mejoza

sekundarni spermatociti ⇒ spermatide

nekoliko
sati

Metamorfoza

iz spermatida oblikuju se ⇒ spermiji

15ak

dana

SPERMIOGENEZA

- Spermioogeneza - 40 do 60 dana.
- Prolazak spermija kroz epididimis 8-14 d

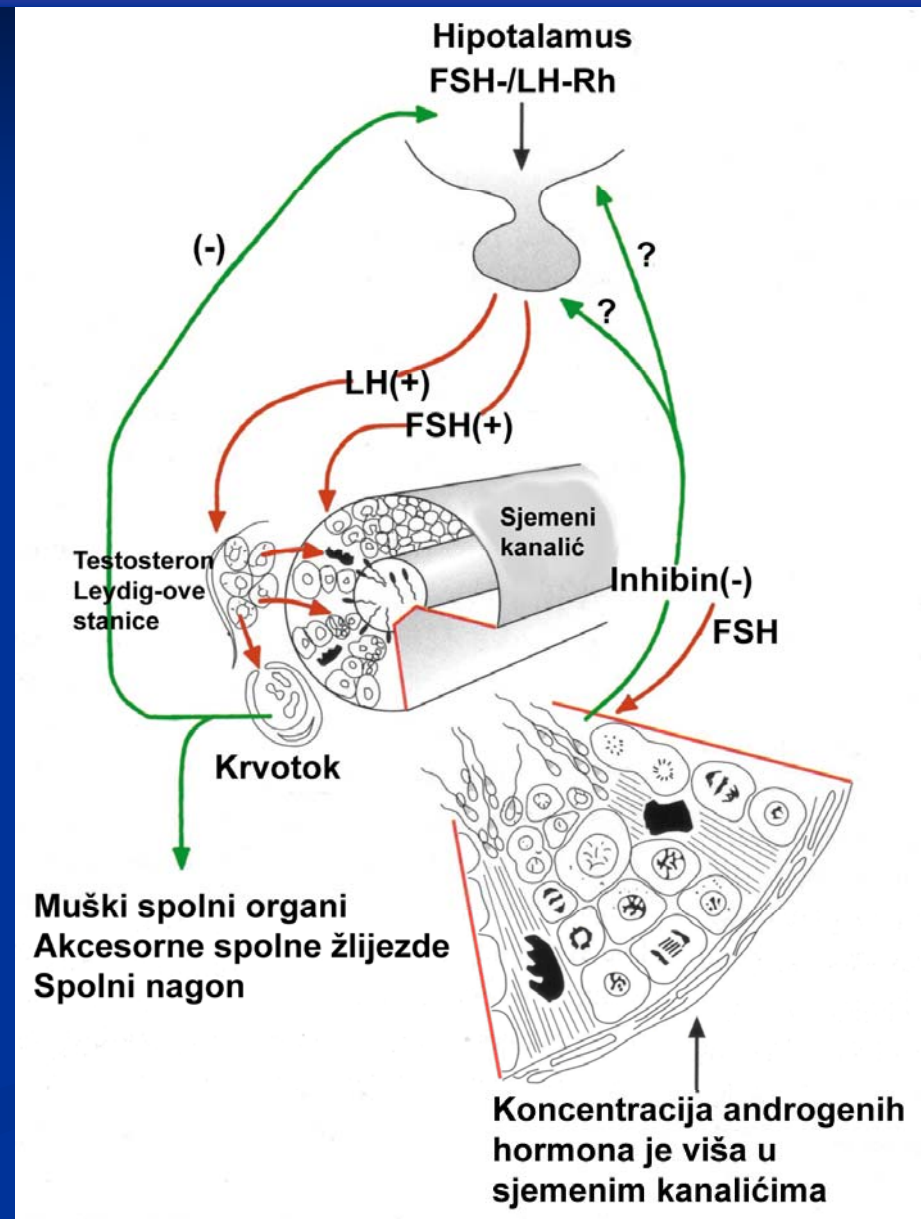
DOKAZ: kod oštećenja testisa (ovisno o mjestu)
pojava patoloških oblika spz u ejakulatu
tek poslije 30 i 60 dana !

DIPLOIDNI BROJ KROMOSOMA

Konj	64	Pas	78
Magarac	62	Mačka	38
Govedo	60	Kunić	44
Koza	60	Štakor	42
Ovca	54	Gorila	48
Svinja	40	Ljudi	46

Hormonalna regulacija funkcije testisa

- pod utjecajem podražaja hipotalamus izlučuje GnRH- stimulacija hipofize na izlučivanje FSH i LH.
- FSH stimulira spermiogenezu u sjem. kanalićima, a Sertolijeve st. na produkciju estrogena, inhibina i ABP.
- Inhibin neg. povratnom spregom djeluje na FSH.
- LH stimulira Leydigove st. na izlučivanje muških spolnih hormona



GRAĐA SPERMIJA

- Otkriću spermija pogodovalo otkriće optičkog mikroskopa
- prvi ih vidio 1677. g. Van Lowenhoock
- novije spoznaje otkrivene pomoću elektr. mikroskopa



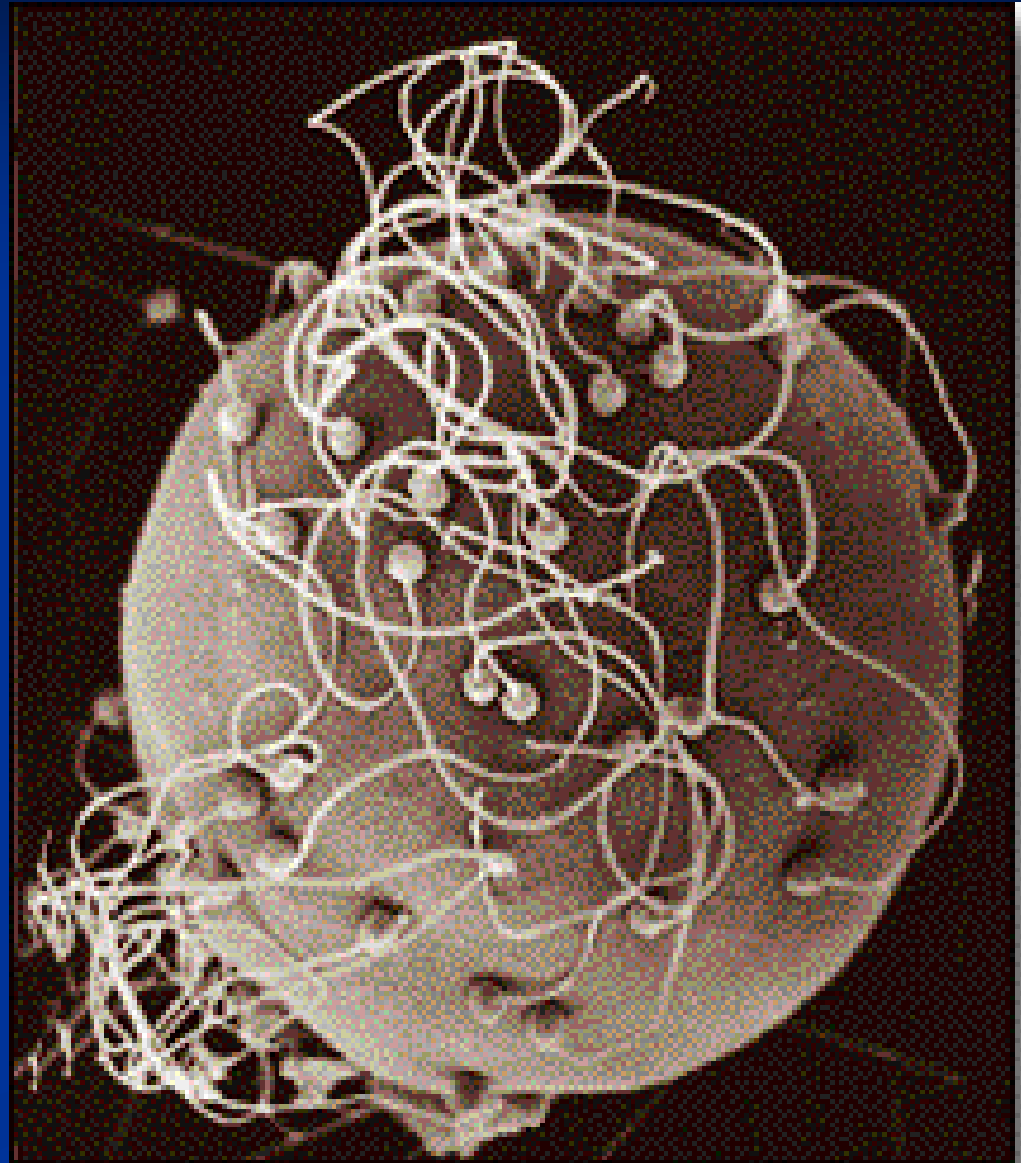
GRAĐA SPERMIJA

- Specifičnog oblika različitog od ostalih st. organizma
- Za razliku od drugih st. spermiji mala citoplazmu
- Ne rastu i ne dijele se
- Mogućnost samostalnog kretanja,
- **sposobnost življenja i oplodnje in vitro u aerobnim i anaerobnim uvjetima.**

GRAĐA SPERMIJA

Usporedba veličine
bičjih spermija
i
jajne stanice krave

1 : 160.000



LIPOPROTEINSKA OVOJNICA

- lipidi, proteini i fosfolipidi
- formira se u nuzjajima tijekom zrenja
- sastoji se od koloidnog sekreta kanala epididimisa
- **FUNKCIJA OVOJNICE:**
 - čini ih plodnim
 - nositelj el. naboja spermija
 - zaštitna uloga

NEZRELI SPERMIJI

- protoplazmatska kapljica
- spušta se od glave prema kraju repa
- gubi se zrenjem
- nezreli spermiji neplodni i neotporni.

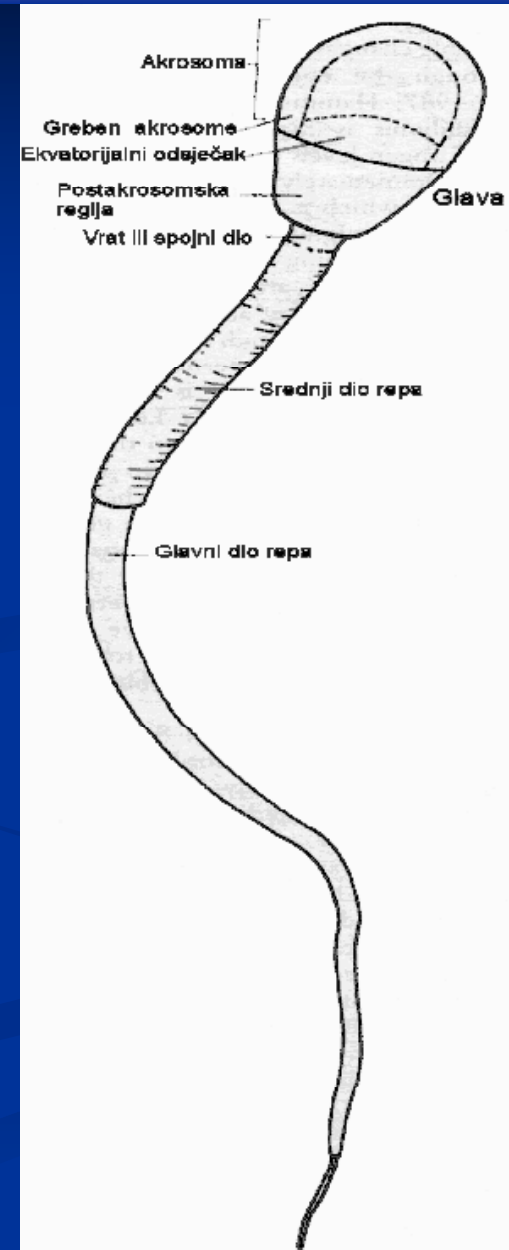


GRAĐA SPERMIJA

a) Glava

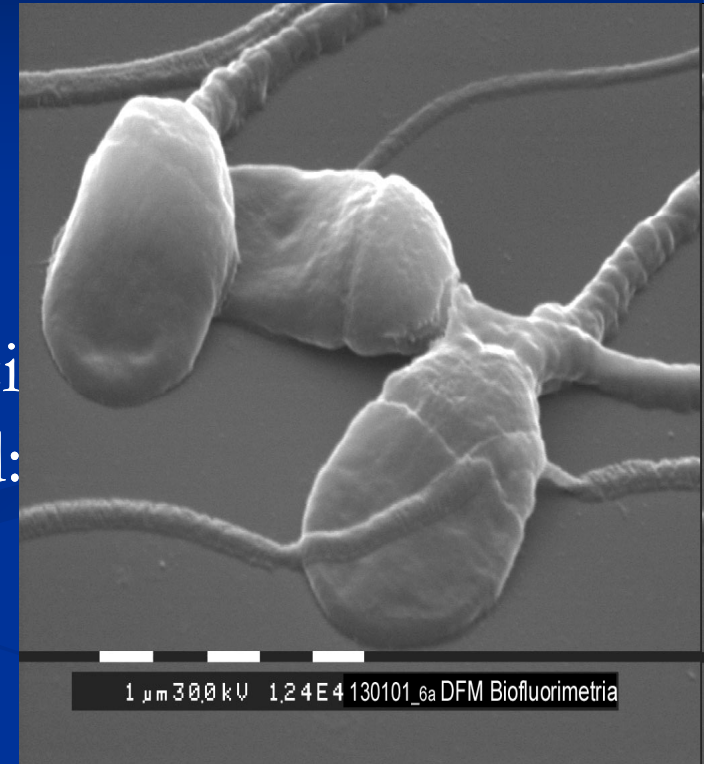
b) Srednji dio

c) Rep



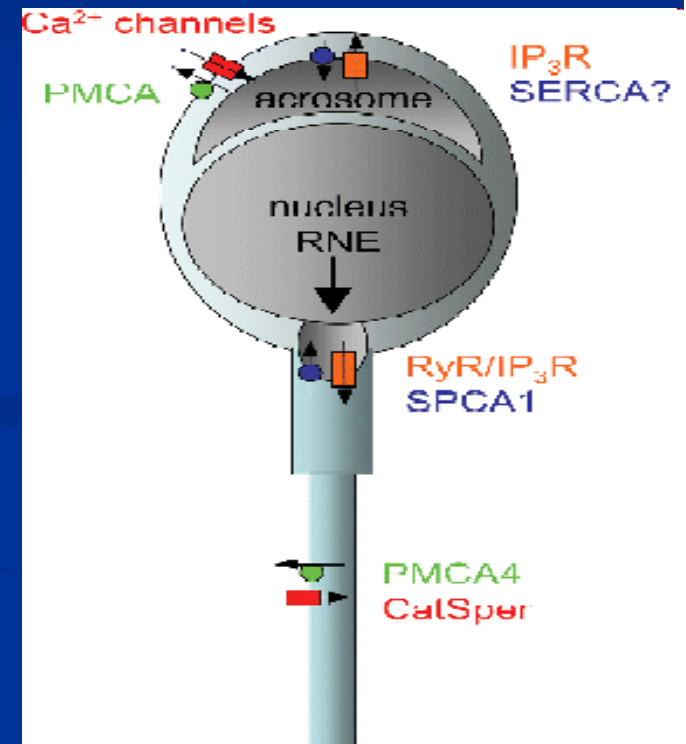
GLAVA SPERMIJA

- kruškolik oblik- konkavna/koveksna
- jezgra st. sadrži nukleus i citoplazmu
- Nukleus -tanak sloj protoplazme, sadrži kompletan genski material Sastoji se od:
 - kromatina
 - DNK
 - RNK
 - nekih bjelančevina
 - AF



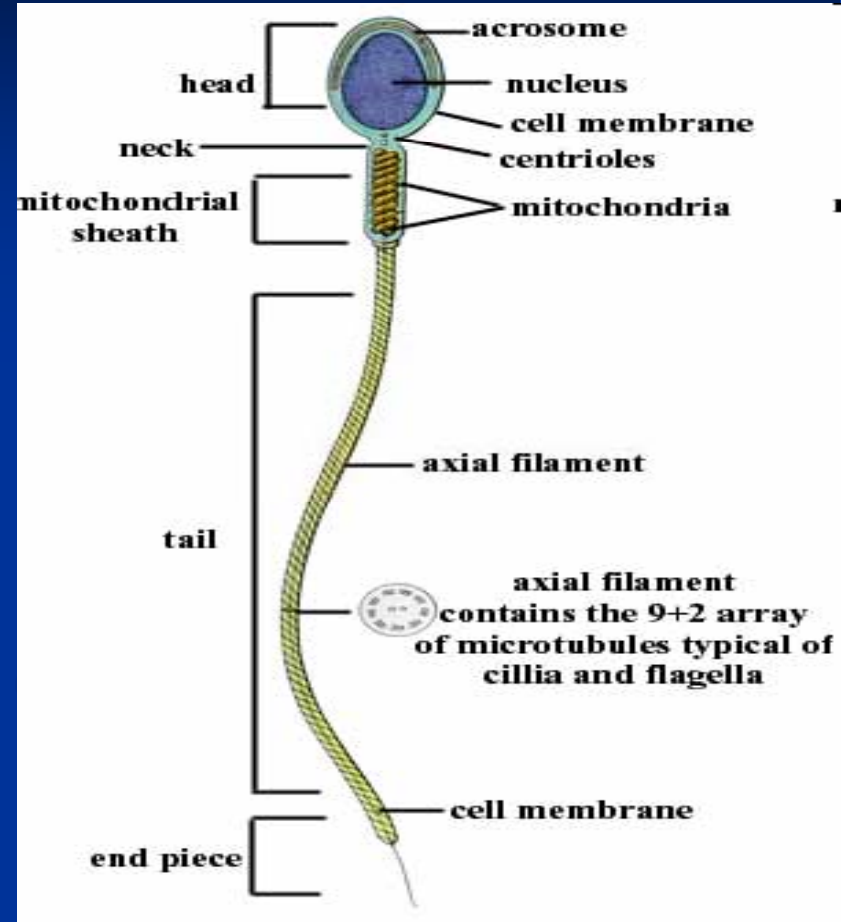
GLAVA SPERMIJA

- **Asimetrija** omogućuje gibanje spermija:
 - pravolinijsko
 - rotacijsko
- Prednji dio pokriva **akrosoma**
- prednji, apikalni i stražnji dio
- enzimi



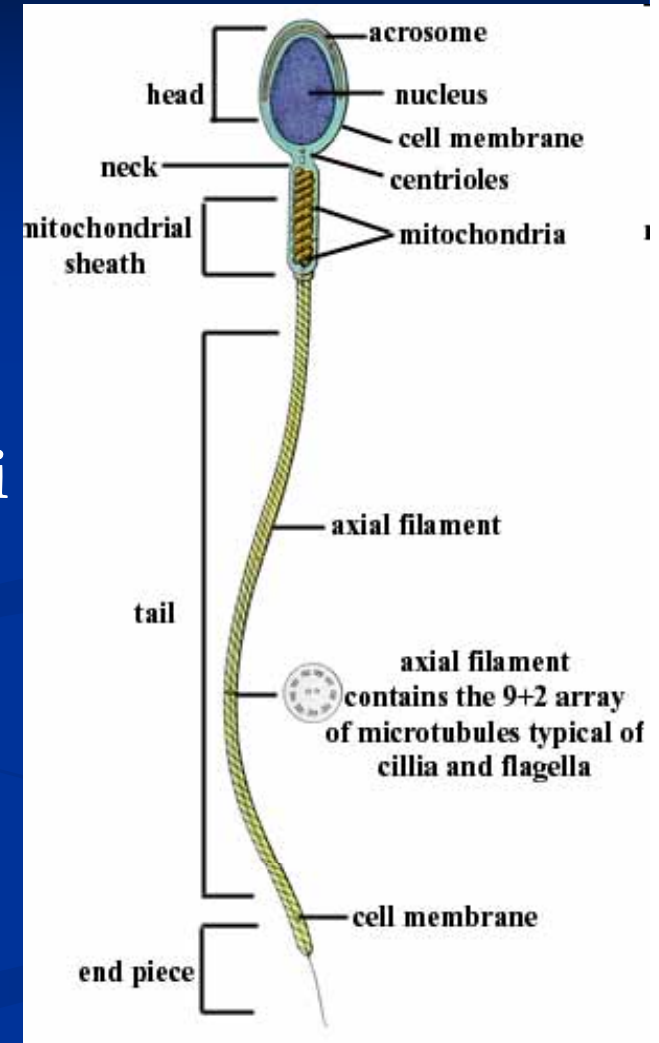
SREDNJI DIO SPERMIJA

- Vrat kratak u njemu proksim. centriol oblika prstena- 9 segmenata
- bazalno tjelešće od kojeg prolaze 2 fibrile centralna i spiralna pružaju se kroz tijelo i rep



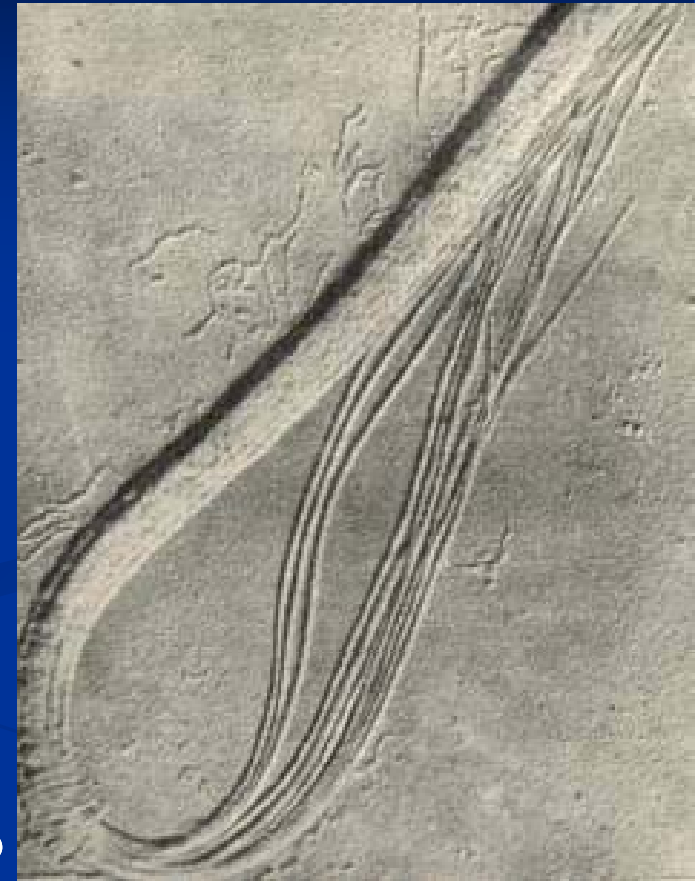
SREDNJI DIO SPERMIJA

- **Tijelo** kratko (10-12 μm)
- **MOTOR** koji pokreće rep i spz
sadrži:
 - **centralnu fibrilu** oko koje **mitohondriji** važni za gibanje
 - **spiralnu fibrilu** savijena obratno od kazaljke sata
- **sadrži: proteine, ugljikohidrate, lipide**



REP SPERMIJA

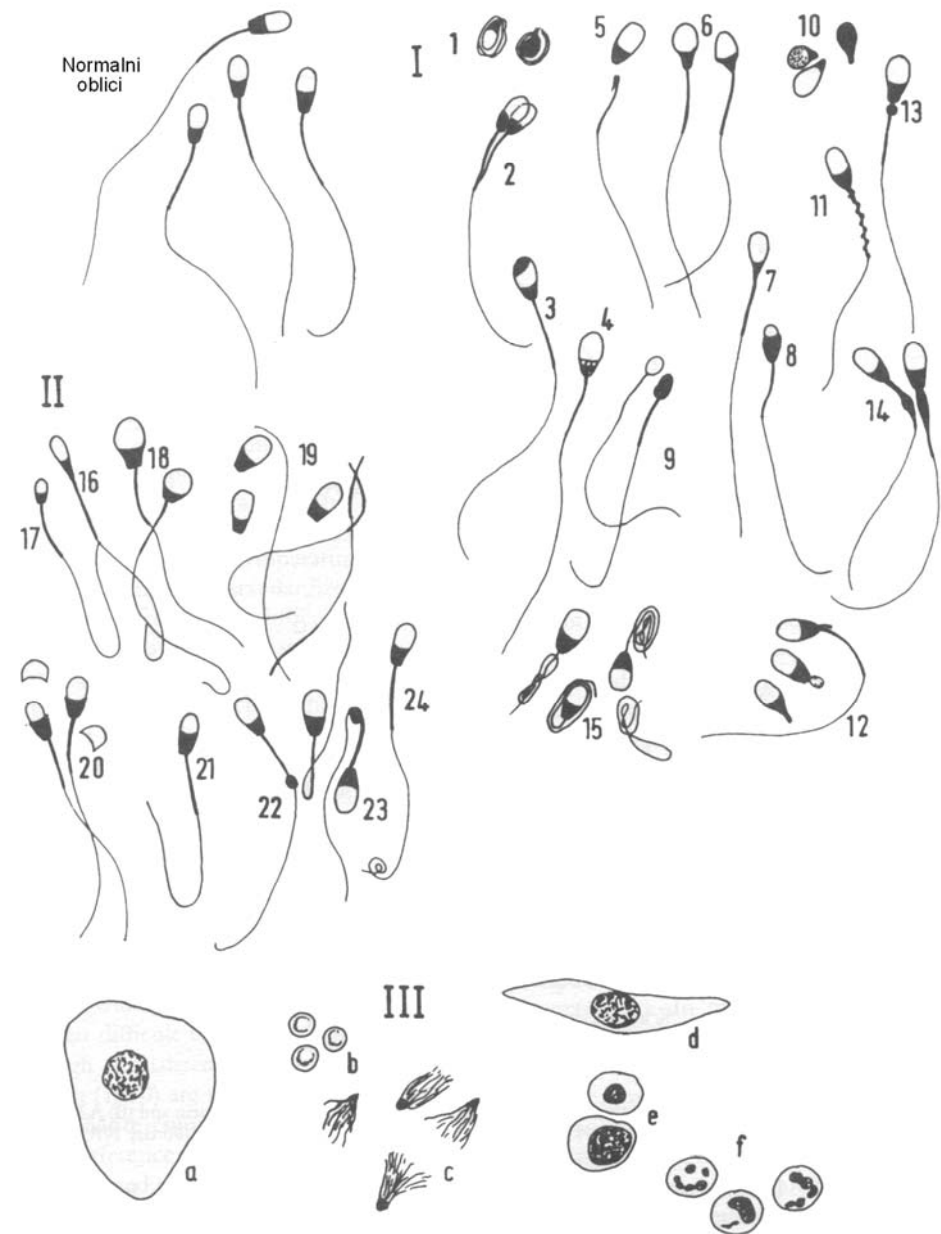
- najduži dio spermija (oko $50\mu\text{m}$)
- prosječna debljina $0,6\mu\text{m}$
- sadrži: centralnu aksonemu koja u području srednjeg dijela omotana mitohondrijski omotačem
- aksonema završava na samom repu kao kist s 9-12 dlačica



PATOLOŠKI OBLICI SPERMIJA

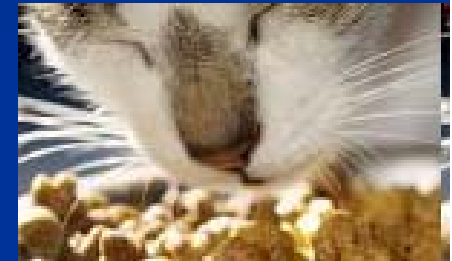
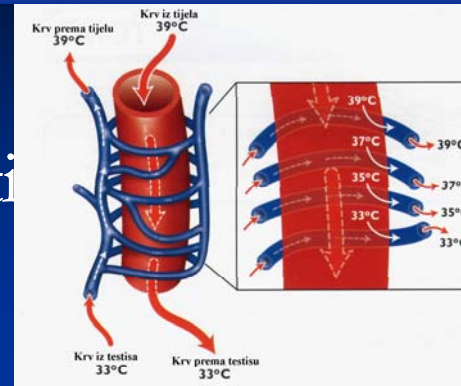
■ Primarni

■ Sekundarni



PRIMARNI

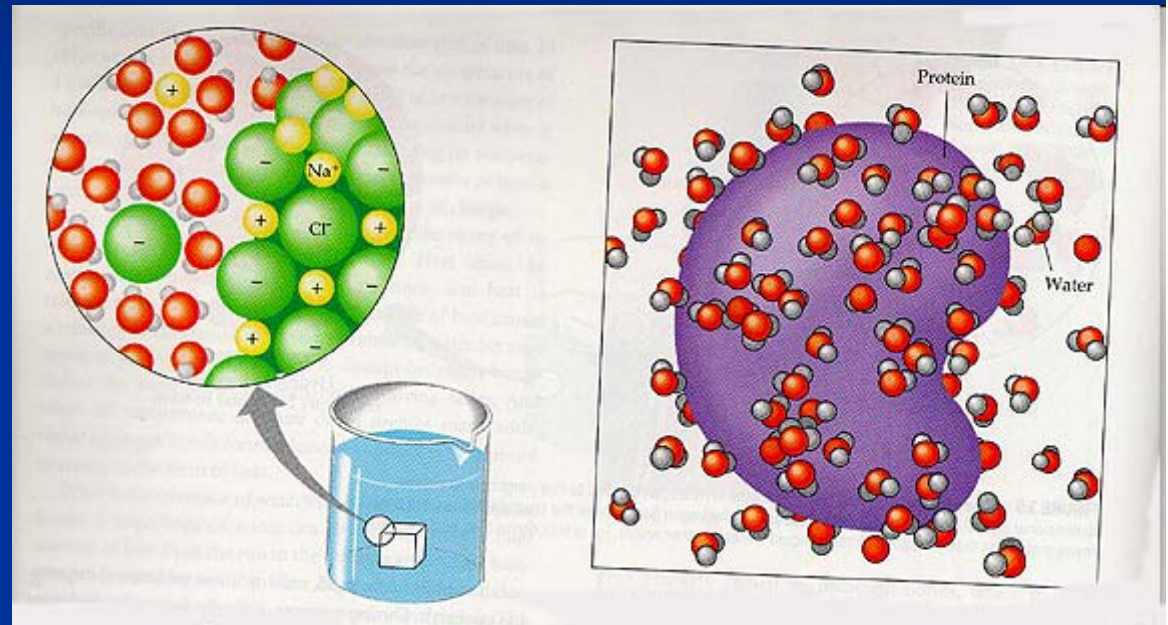
- degenerativnim i upalnim procesi u sp. orgaima (leukociti itd.)
- poremećaj termoregulacije
- deficitarna prehrana (Vit E)
- teški fizički rad
- urođene anomalijama



SEKUNDARNI

■ hipotonija

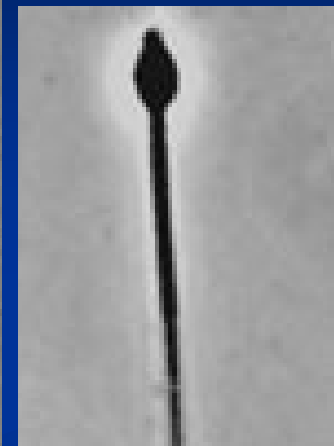
■ hipertonija



PROMJENE NA GLAVI

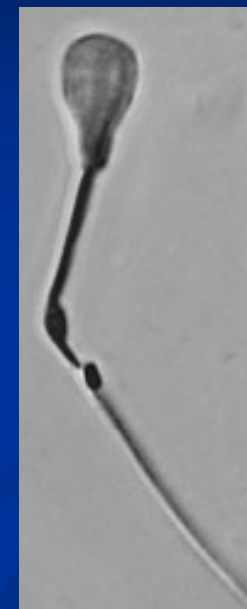
- mikrospermiji
- gigantski s 2-4 glave s 1. repom
- razni oblici deform (kruška, osmica, polumjesec, okrugli, klinasti – šiljasti, krunasto oštećenje, preuska, premalena, prevelika, kratka, široka i otpala normalna)

⇒ najčešće primarne, nastale tijekom spermiogeneze i prilikom ejakulacije!



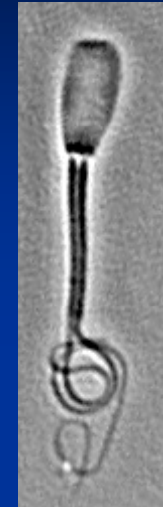
PROMJENE NA SREDNJEM DIJELU

- spiralno oštećenje
- protoplazmatska, pseudokapljica
- ostale deform. srednjeg dijela
- nabiranje i zavrnuće srednjeg dijela spermija (tzv.dag defekt).



PROMJENE NA REPU

- dvostruki repovi, savijeni, prekinuti, prekratki, retroaksijalna implantacija repa, distalna kapljica, zavrnut rep itd..



- Pretežno sekundarne naravi
Uzroci: hladnoća, grub postupak pri manipulaciji, razrjeđivači



PATOLOŠKI OBLICI SPREMIJA

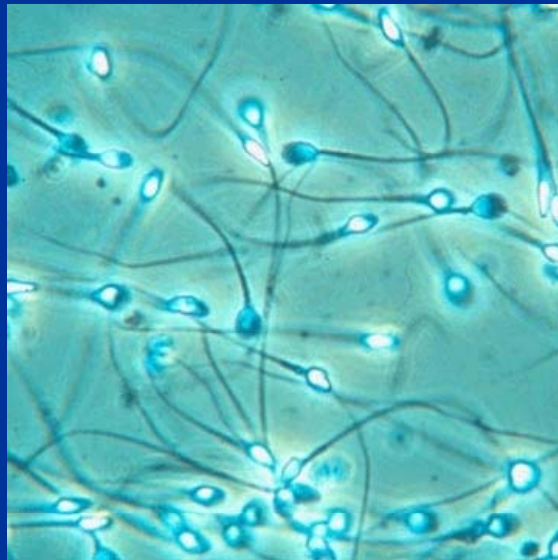
- U bičjim ejakulatima uglavnom ih nema
no može ih biti do 18%.
- Posljedica neplodnost (*impotentio generandi*)
- Smatraju se nasljednim, nositelj anomalija je autosomalni recesivni gen!

PATOLOŠKI OBLICI SPREMIJA

- Dopušteni % **patoloških oblika** preživači 14-18%, nerast 20%, pastuh 25%
- Dopušteni % **nezrelih oblika** preživači 2%, nerast i pastuh 10%

EJAKULAT - SPERMA

- Složena tekućina koja se pod određenim uvjetima na mahove izbacuje kroz vanjski otvor uretre



EJAKULAT - SPERMA

Zajednički proizvod:

TESTISA

EPIDIDIMISA

AKCESORNIH SP. ŽLIJEZDA



Sastoji se od: **SPERMIJA** i
SJEMENE PLAZME

EJAKULACIJA

⇐ SADRŽAJ EPIDIDIMISA
SPERMIJI + SEKRET

⇐ SEKRET AKCESORNIH SPOLNIH ŽLIJEZDA

EJAKULAT: korpuskularni dio (spermiji + epitel)
tekući dio (sjemena plazma)

Nastaje ejakulacijom i polucijom

KOLIČINA EJAKULATA

■ uzrastu



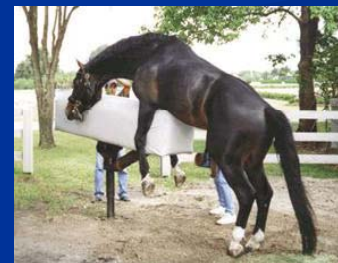
■ tjelesnoj masi



■ vrsti



■ iskorištavanju



■ prehrani



■ individualnim razlikama

OBILJEŽJA EJAKULATA

Vrsta	Prosječni volumen	Broj mil/ml	pH
Bik	2-12 (5-7)	1.000 (300-2.000)	6-6,7
Jarac	1 (0,7-2)	2-5.000	6.2-7
Ovan	1 (0,7-2)	2-5.000	6.2-7
Nerast	250 (150-500)	100 (25-300)	6,4-7,4
Pastuh	120 (30-300)	120 (30-800)	6,8-7,5
Pas	1-25	125 (3-350)	6,0-7,0
Kunić	1 (0,4-6,0)	700 (100-2.000)	6,6-7,5
Čovjek	3,5 (2-6)	100 (50-150)	7,4 (7,1-7,5)

NEKE OSOBITOSTI EJAKULATA

- Sastav pretežno voda

Od 85% (ovan) do 96% (pas)

- Depresija ledišta: $-0,6^{\circ}\text{C}$ ($-0,54$)

- Veličina: cijeli spermij $55-70\mu$

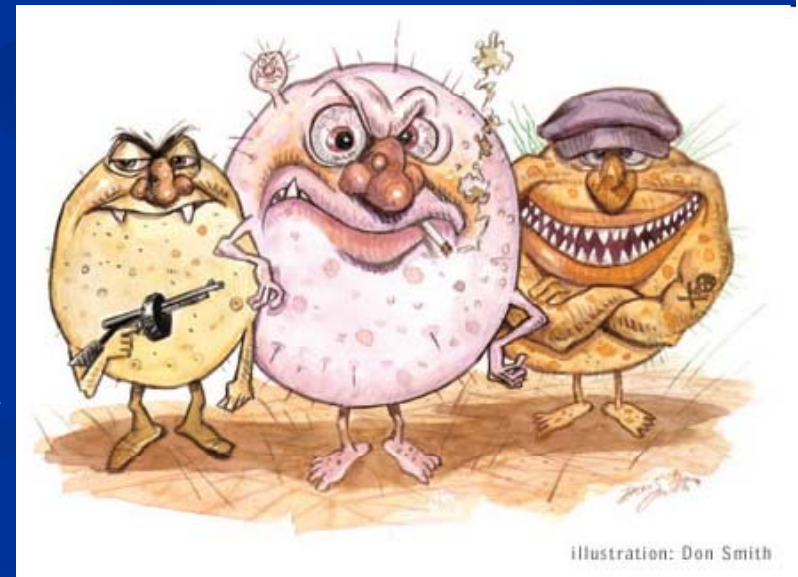
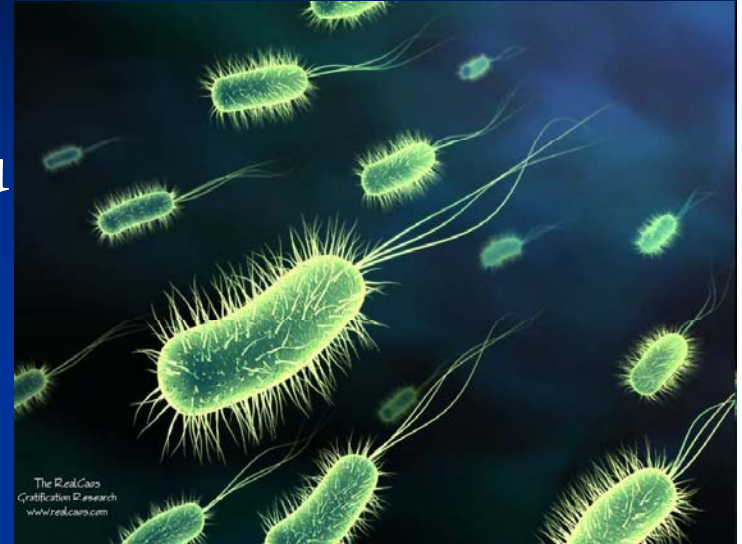
glava	$5-9\mu$
širina	$1-3\mu$

BIOKEMIJSKI SASTAV EJAKULATA

	bik	ovan	pastuh	nerast	pas
pH	6,8	6,8	7,4	7,3	6,7
Fruktozamg/%	530	250-300	3	13	<1
Inozit	63	40	650	38	
Sorbitol	10-136	26-120	6-18	20-40	
Fosfati	80	375	17	66	13
Limunska kis.	720	137	130	66	
Ergotiomin	U tragovima		3,12	7,6	
Protein	5,8	10	1,5	3,8	
Ledište (-)	0,54-0,73	0,55-0,7	0,58-0,62	0,59-0,63	0,58-0,6

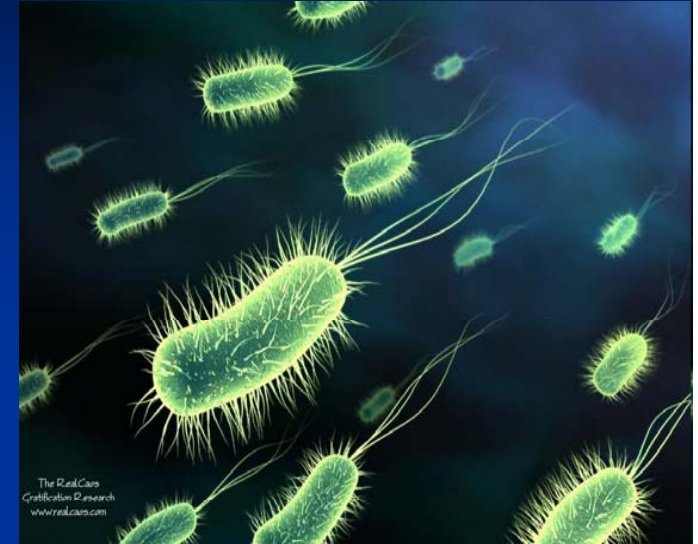
MIKROFLORA EJAKULATA

- Različite bakterije mogu se nalaziti u ejakulatu, ili dospijevaju u njega prilikom polučivanja, pohrane, razrjeđivanja ili UO
- mogu inficirati ženske sp. organe
- oštećuju spermije i smanjuju plodnost



MIKROFLORA EJAKULATA

- **Saprofiti** (E.coli, Proteus spp. Subtilis, streptokoki itd.)
- **Uvjetno patogene** (P. pyocaneum, aeruginosa, S. aureus itd.)
- **Uzročnici specif. bolesti** (B. abortus, M. tuberculosis, C. foetus)
- **Protozoe, rikecije, virusi**



KEMIJSKI SASTAV EJAKULATA

- **Bjelančevine** (složene i jednostavne)-spermozin
- **Enzimi** (hijaluronidaza, mucinaza, indofenoloksidaza, citokromoksidaza, lipaza, alkalna fosfataza itd.)
- **Ugljikohidrati** (5 vrsta u sj. plazmi)

METABOLIZAM SPERMIJA

FAKULTATIVNI ANAEROBI

a) AEROBNI UVJETI

(bioksidacija)

b) ANAEROBNI UVJETI

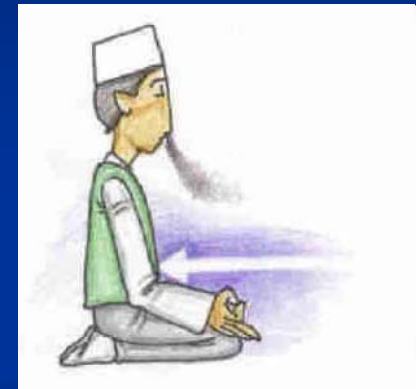
(glikoliza)

METABOLIZAM SPERMIJA

a) AEROBNI UVJETI (bioksidacija-disanje)

KORISTE:

- jednostavne šećere
- lipoide
- aminokiseline



METABOLIZAM SPERMIJA

b) ANAEROBNI UVJETI

koriste fruktozu - svoj prirodni šećer

FRUKTOZA (iz sjemene plazme) - pH alkaln

↓ glikoliza

MLIJEČNA KISELINA + ENERGIJA



Pada pH sjemene plazme ➔ **šteti spermijima**



METABOLIZAM SPERMIJA

b) ANAEROBNI UVJETI

Nizak pH sjemene plazme



šteti spermijima



brzo trošenje zaliha!!!

potiče intenzitet metabolizma ↑



Alkalni sekret akcesornih spolnih žlijezda

METABOLIZAM SPERMIJA

Spermiji za dobivanje energije koriste

- šećere



- masne tvari



- bjelančevine



OBILJEŽJA EJAKULATA PREŽIVAČA

- malog volumena
- velik br. spermija (gust)
- malo sj. plazme
- sadrže puno **FRUKTOZE** (sjem.plazma)



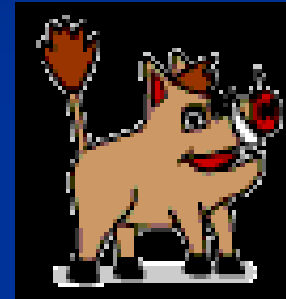
prevladavaju procesi **glikolize**



OBILJEŽJA EJAKULATA PASTUHA, NERASTA, PSA

- Velikog volumena, rijetki

- Malo fruktoze

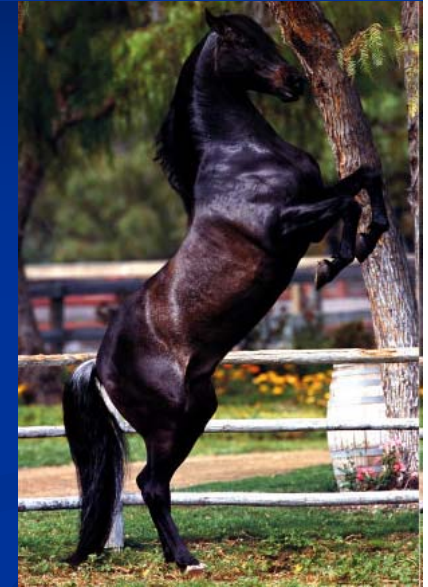


- Prevladavaju procesi DISANJA

- Najviše se troše lipoidi



spermiji ugibaju



ANABIOZA

- minimalna mijena tvari –reverzibilan proces
- sniženjem temp. metabolički procesi slabe
- grijanjem ožive i sposobni za oplodnju.
- vitamini, tvari koje inhibiraju stanični metabolizam (proliferacija) (CO₂, trankvilajzeri).
- važno razrjeđivaču dodati dosta energije

GIBANJE SPERMIJA

- pH
- Temperatura
- Razina šećera
- Gustoća medija
- Pasivno gibanje (kontrakcije uterusa)
- Trepetiljke epitela sluzinice jajovoda i uterusa
- Reotaksija
- Aktivnost spermija

ELEKTRIČNI NABOJ SPERMIJA

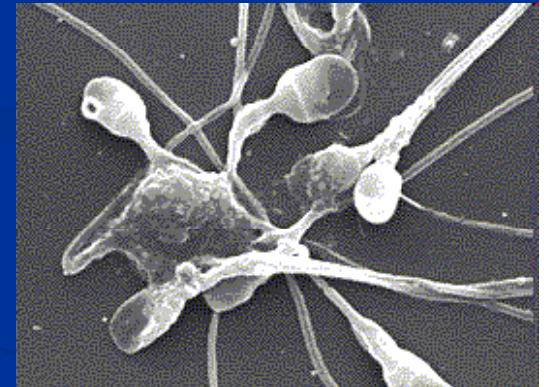
a) **Ph medija** koji djeluje na:

- intenzitet fruktolize
- stvaranje kinetičke energije

Spermijima više odgovara alkalna sredina

- Kod pH 3 –miruju

Kod pH 0 – gube el. potencijal



b) **ioni metala** (kationi smanjuju, anioni povećavaju el. potencijal)

PREŽIVLJAVANJE SPERMIJA *IN VITRO*

■ Temperatura



■ Kemijske tvari



■ Svjetlost



■ Antibiotici



■ Osmotski tlak



■ Zrak

■ Elektroliti

■ Krv i urin



■ pH

■ Ultrazvuk

■ Metali



■ Rendgenske zrake

TEMPERATURA

Što je ona viša:

- Brža mijena tvari
- Troše se izvori energije
- Spermiji brže ugibaju



45 – 46°C ⇒ štetne za spermije

50°C ⇒ koagulacija nekih bjelančevina

⇒ inaktivacija nekih enzima

TEMPERATURA

Na nekim temperaturama:

38-40°C (tjelesna temp.) 24^h 1 dan

18-20°C (sobna temp.) do 100^h 4 dana

3°C do 400^h 16 dana



TEMPERATURA

Svijež, netom polučeni ejakulat (37°C)

↓ Naglo hlađenje

18°C



TEMPERATURNI ŠOK SPERMIJA



TEMPERATURA

POS LJEDICE:

- oštećuje se lipoprot. ovojnica

- postaje propusna za važne metabolite (enzimi, ATP, fruktoza)

- poremetnje mijene nekih fosfolipida: neki spermiji ugibaju drugi su (manje/više) oštećeni



TEMPERATURA

Oštećena je sperma neplodna



AKINEZA



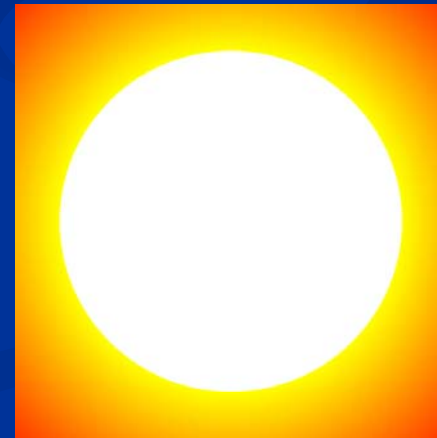
- Ireverzibilno stanje (nepomična sp.)
- Razlika od stanja fiziološke **ANABIOZE** koja je reverzibilna !

SVJETLOST

Šteti im direktno izlaganje

dnevnom svjetlu

Pri polučivanju, spermu treba zaštititi od
direktnog svjetla!



OSMOTSKI TLAK

Karakterističan za spermu:

od -0,58 do -0,62 (izotonija)

U dodiru sa hipo i hipertoničnom otopinom spermiji brzo ugibaju!!

Sav pribor za postupke sa spermom mora biti suh ili ispran razrjeđivačem.

Spermi šteti potresanje, stoga treba sve posude napuniti do vrha!!

ELEKTROLITI

- Razrjeđivači ih moraju sadržavati jer bez njih stanice gube podražljivost i pokretljivost
- **ANIONI:**
- usporavaju propadanje spermija (sulfati, tartarati, citrati, oksalati), jer sprječavaju bubrenje koloida i štite lipoproteinsku ovojnicu.
- **pospješuju bubrenje lipoproteinske ovojnice,** spermicidni su i izazivaju smrt spermija (kloridi, klorati, jodid);

pH

Fruktoliza

optimalna: pH 7,6

usporena: pH 6,4

Sustav puferiranja sperme :

ovna****, bika***, nerasta**, pastuha*

METALI

Štetno djeluju na spermije!

Osim Au i Pt!!!

Sav pribor koji dolazi u dodir sa spermom treba biti od:

Posebne gume

Plastičnih masa

Stakla



KEMIJSKE TVARI

Spermohvatači, umjetne vagine i ostali
probor čiste se :

sterilizacija visokim temp. , vodom ili
75%-om otopinom alkohola (ishlapi)

IZBJEGAVATI!!!

Detergente, sapune, lužine, kiseline.



KEMIJSKE TVARI- KISELINE

- **Jake anorganske kiseline** (HCl , H_2SO_4) u otopini disociraju i ne mogu prodrijeti kroz staničnu membranu
- **Slabe anorganske kiseline** u otopini ne disociraju u potpunosti (neke molekule ostaju cijele):
 - Prodiru u spermije
 - Snižavaju pH
 - Usporavaju proces glikolize i kretanje spermija

ANTIBIOTICI

- ejakulat povoljan medij za razvoj MO
- antibiotici sprječavaju njihovo razmnožavanje i rast
- streptomycin i penicilin (kristacilin) i drugi antibiotici koji ne škode spermijima

ZRAK

- aktivira kemijske procese
- sperma brzo ostaje bez energije i dolazi do bržeg uginuća spermija
- tzv. Cambridge metoda punjenjem posude do vrha, stavljanjem glicerina na površinu itd
- U manjim koncentracijama plinovi CO_2 i N_2 su neškodljivi za spermu



KRV I URIN

- Onečišćuju ejakulat
- Krvni enzimi oštećuju spermije



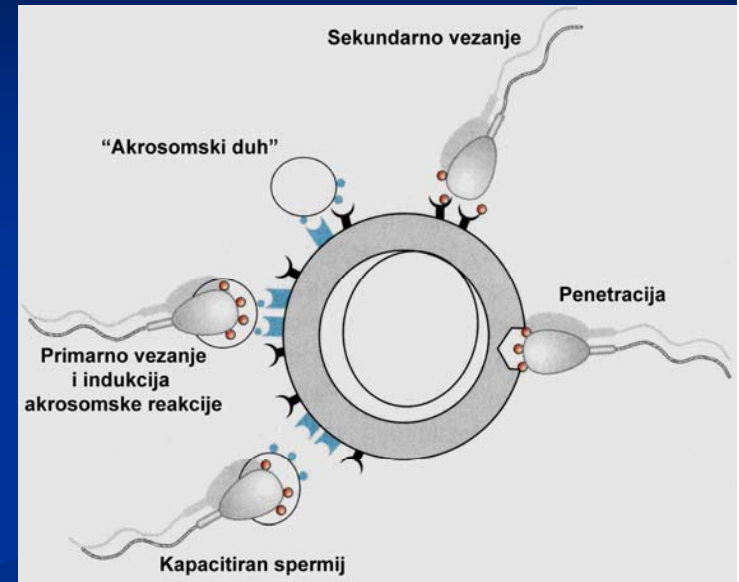
UZV i RTG

- Duže djelovanje UZV smanjuje metabolizam
- stvara se vodikov peroksid
- rendgenske zrake ubijaju spermije



KAPACITACIJA SPERMIJA

- Neposredno nakon ejakulacije spermiji nisu sposobni za oplodnju
- Da bi sperma mogla oploditi jajnu st., mora biti dospjeti u jajovod
- vezati se s epitelom i podvrći procesima kapacitacije i akros. reakcije



KAPACITACIJA SPERMIJA

- uključuje zbivanja na plazminoj membrani glave spermija
- Važnost kapacitacije očituje se na 3 razine:
 - 1) hiperaktivna pokretljivosti spermija
 - 2) penetracija cumulus oophorusa
 - 3) priprema spermija za akrosomsku reakciju

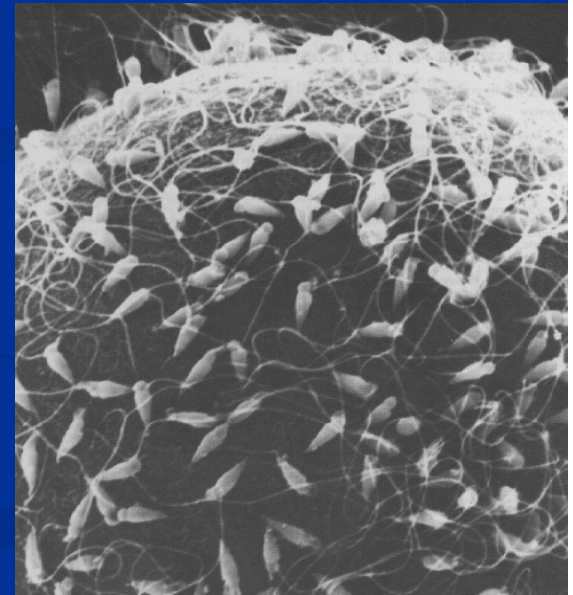
KAPACITACIJA SPERMIJA

- *In vivo* kapacitacija se odvija tijekom prolaska spermija kroz genitalni trakt ženke
- Glikozaminoglikani induciraju akros. reakciju u spermijima
- tekućina jajovoda ima utjecaj na spermije olakšava proces oplodnje jajne st.
- Učinak ovisi o stadiju sp. ciklusa



KAPACITACIJA SPERMIJA

- Spermiji se usmjeravaju k jajnoj st. na temelju receptora, i kemotaksija spz.
- Prilikom ovulacije jajna st. obavijena s 2 sloja: stanicama c. oophorusa i z. pellucide
- Kapacitirani spermiji s intaktnom akrosomom vežu se na z. pellucidu, a najvažniju ulogu ima glikoprotein ZP3, sudjeluje i u indukciji ak. reakcije



AKROSOMSKA REAKCIJA

- Akrosomska reakcija predstavlja strukturalnu i biokemijsku promjenu na spermijima
- Na nekoliko se mjesta stapaju ovojnica glave spermija i vanjska ovojnica akrosome - izlazak proteolitičkih enzima
- Oslobađaju se i hidrolitičke enzime i proteaze (hijaluronidaza, akrozin)

AKROSOMSKA REAKCIJA

- Spermiji gube akrosomu
- u živih = prava akrosomska reakcija

- u mrtvih = lažna akrosomska reakcija - postmortalna promjena i jako oštećenje akrosome, plazmine membrane

