Artykuł przeglądowy *Review*

Plemnik plemnikowi nierówny – fizjologia czy patologia?

JOANNA BEATA BIERŁA, ZYGMUNT GIŻEJEWSKI*

Katedra Nauk Fizjologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 166, 02-776 Warszawa
*Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn

Bierła J. B., Giżejewski Z.

Differences in spermatozoon: physiology or pathology?

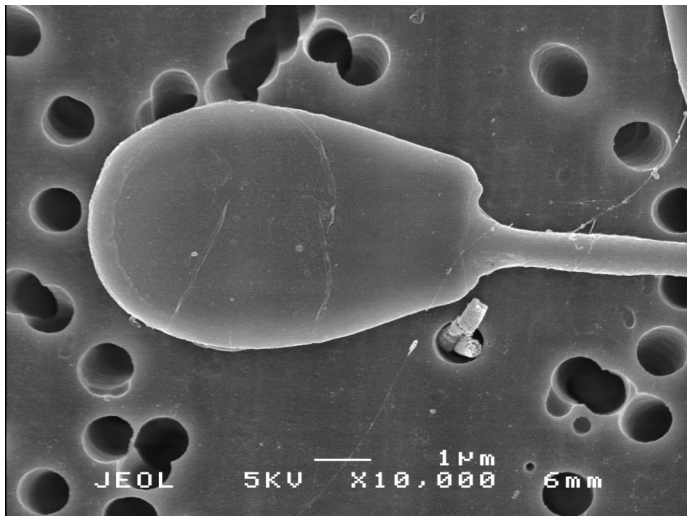
Summary

Mammal spermatozoa demonstrate a wide morphologic variety resulting from the different histories of their genetic development. Alongside a general sperm classification including a head and tail there are significant differences between shape and size of head and length of tail between particular species. Regarding species peculiarity, the differences in the sperm can be determined not only with the quantity of genetic material in testicles possessing a particular shape and different grade of flattening, but also with: size, grade of acrosom diversity and other morphometric features of the remaining gamete parts: the neck and midpiece. During sperm morphology estimation it is crucial to consider the breeding season of particular species, because the quality of semen in moderate and cool climate animals is strongly influenced by the length of the day. While studying semen characteristics for particular species of wild animals, on account of differences in processes of spermatogenesis determined by a variety of factors, in the majority of cases the useful spermiograms for domestic animals cannot be applied.

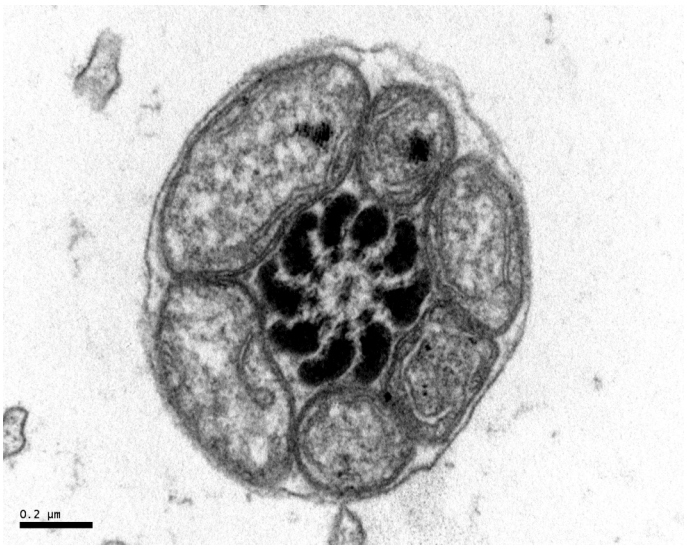
Keywords: spermatozoon, sperm morphology

W przeciwieństwie do zwierząt domowych, biologia rozrodu zwierząt dzikich jest słabo poznana i niejednokrotnie ogranicza się do takich danych, jak: długość ciąży, ilość młodych w miocie, czy też prawd dających ogólne pojęcie w tej dziedzinie. Ze względu na szybki rozwój metod biotechnologicznych w rozrodzie zwierząt domowych potrzebą chwili jest przeniesienie już poznanych procedur na zwierzęta dzikie – ginące, jako alternatywnych metod ochrony ginących gatunków. Prace nad konserwacją gamet, przenoszeniem oraz mrożeniem zarodków zostały już skutecznie przeprowadzone na wielu gatunkach zwierząt nieudomowionych (3, 19, 22, 28). Zważywszy jednak na szerokie zróżnicowanie filogenetyczne poszczególnych gatunków zwierząt, wymagane jest prowadzenie indywidualnych badań oraz dopasowanie technik badawczych z uwzględnieniem specyfiki ich biologii rozrodu. Problem ten dotyczy również pozornie prostych badań nad morfologią plemników i to zagadnienie zostanie omówione w niniejszym artykule.

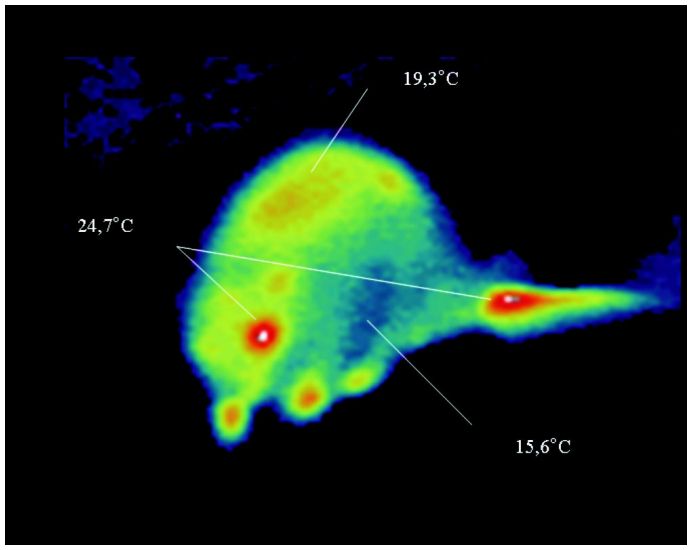
Plemniki wszystkich gatunków ssaków charakteryzują się wysoką specjalizacją morfologiczną, pozwalającą na przeniesienie haploidalnej informacji genetycznej „do" i „przez" drogi rozrodcze samicy w celu połączenia z materiałem genetycznym oocytu. Każdy plemnik ssaka, niezależnie od gatunku może być podzielony na główkę i witkę. Kształt główki plemnika to cecha specyficzna gatunkowo uwarunkowana w głównej mierze przez kształt i wielkość jądra, jak i akrosomu. Ponadto każdy z trzech segmentów akrosomu – szczytowy, właściwy i równikowy – cechuje szereg specyficznych właściwości, takich jak wielkość, zasięg otaczania jądra plemnika (2, 10, 11, 18). Przykładowo, plemniki parzystokopytnych charakteryzują się spłaszczonym jądrem, okrytym w części szczytowej przez niewielki akrosom (ryc. 1). Relatywnie niepozorny akrosom przykrywa stożkowate jądra plemników przedstawicieli rzędu nieparzystokopytnych,



Ryc. 1. Prawidłowa główka plemnika jelenia szlachetnego. Mikroskop elektronowy skaningowy JEOL, Bar =1 µm



Ryc. 2. Przekrój poprzeczny przez wstawkę plemnika bobra europejskiego (*Castor fiber*). Mikroskop elektronowy transmisyjny, Bar = 0,2 µm



Ryc. 3. Bóbr europejski; rozkład temperatur ciała w środowisku o temperaturze 10°C. Kamera termowizyjna (Volker Z. i wsp., 2005)

drapieżnych i naczelnych. Jądra plemników owadożernych ssaków łożyskowych charakteryzują się również stożkowatym kształtem, jednak w tym przypadku szczytowa część akrosomu jest znacznie wydłużona. Spośród ssaków łożyskowych przedstawiciele rzędu gryzoni charakteryzują się największą różnorodnością morfologii plemników. Przyczyną tego jest fakt, że spermatydy większości gatunków gryzoni (np.: mysz *Mus musculus*, szczur wędrowny *Rattus norvegicus*, leming właściwy *Lemmus lemmus*) w końcowych fazach spermiogenezy przybierają asymetryczny, haczykowaty kształt, zaś szczytowy segment może przybierać mniej lub bardziej wydłużoną formę (26). Prymitywne ssaki – stekowce i łuskowce – cechuje szczególna morfologia, gdyż nitkowate główki są zbliżone kształtem do plemników gadów i ptaków (1).

Cechą specyficzną dla danego gatunku jest również morfologia witki, gdyż przy ocenie należy rozważyć, czy dany typ połączenia witki z główką, długość i szerokość wstawki, długość samej witki są prawidłowe, czy też są formami patologicznymi. Wielkość wstawki w głównej mierze jest uzależniona od ilości, wielkości spiralnie ułożonych mitochondriów (ryc. 2). Dla porównania wstawkę plemnika człowieka o długości 5 µm tworzy helisa połączonych mitochondriów, ułożona w 10 do 13 pętli, podczas gdy niektóre gryzonie mają ich ponad 300 (1, 18).

Plemniki o prawidłowym kształcie i wielkości, określone jako normalne, są typowe dla danego gatunku. Brak jest jednak korelacji pomiędzy wielkością ciała a długością plemników (16). Ważący 10 g ostronos workowaty (*Tarsipes rostratus*) posiada plemniki prawie siedem razy dłuższe – 356 µm – niż człowiek (1), zaś najmniejsze plemniki – 25 µm – opisano u ważącego blisko 40 ton kaszalota (*Physeter cotodon*) (24).

Na morfologię plemników ma wpływ szereg parametrów, zarówno wewnętrznych, jak i zewnętrznych. Jednym z nich jest temperatura moszny, a raczej jąder, mająca znaczący wpływ na produkcję i dojrzewanie plemników (5). Wzrost temperatury (stany zapalne, wnętrostwo itp.) prowadzi do zaburzeń w mitozie B spermatogoniów, a w efekcie do zaniku spermatocytów pierwszorzędowych w fazie pachytenu (32). Istnieje jednak szereg zwierząt charakteryzujących się fizjologicznym, naturalnym wnętrostwem, czego przykładem może być ryjówka europejska (*Sorex araneus*) (31) czy bóbr europejski (*Castor fiber* L.) (17) (ryc. 3). W przypadku tych zwierząt temperatura ciała waha się od 25° do 35°C, co pozwala na uniknięcie zakłóceń w przebiegu spermatogenezy (15, 27, 33).

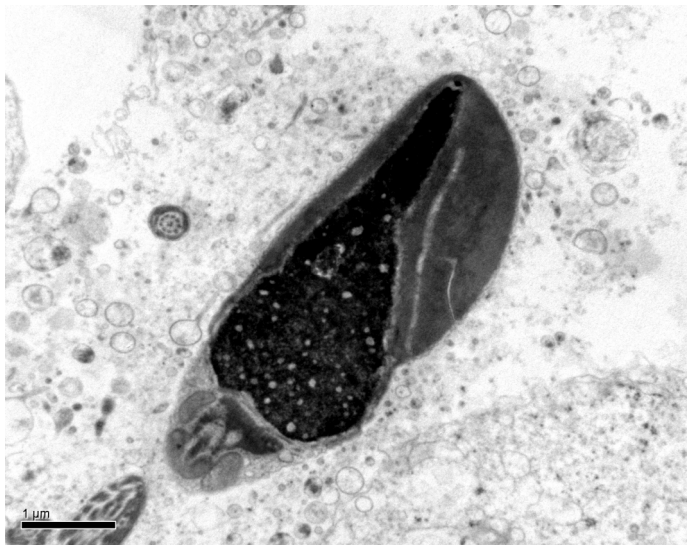
Kolejnym czynnikiem, mającym kluczowy wpływ na morfologię plemników jest stopień spokrewnienia zwierząt, niestety, nieunikniony w przypadku pracy hodowlanej na małych grupach zwierząt zagrożonych wyginięciem. Badania prowadzone nad rozrodem dzikich kotowatych, takich jak np.: pantera śnieżna – irbis (*Uncia uncia*), puma (*Felis concolor*), gepard (*Acinonyx jubatus*) wskazują na wzrost udziału procentowego wadliwych plemników o zróżnicowanym kształcie główek, o silnie zapętlonych, również w obrębie szyjki, witkach, wraz ze wzrostem stopnia spokrewnienia pomiędzy osobnikami. Podobne obserwacje dotyczące wzrostu zaburzeń kształtu główki plemnika oraz wzrostu notowania kropli cytoplazmatycznych poczyniono odnośnie do szeregu gatunków gazel (14).

U zwierząt wolno żyjących klimatu umiarkowanego występuje wybitna sezonowość rozrodu. Wpływ fotoperiodu na spermatogenezę i morfologię plemników zwierząt dzikich wykazano m.in. u jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus*). W ocenie jakości nasienia pobranego w okresie szczytu aktywności rozrodczej na sztuczną pochwę wykazano silną korelację pomiędzy porą roku a liczbą plemników zmienionych. Nasienie byków jeleni w okresie od początku września do połowy listopada wykazywało poniżej 5% wad

głównych. Po tym terminie procentowy udział tych wad stopniowo się zwiększał i w okresie od grudnia do początku kwietnia zawierał się w granicach od 10% do 52%. Jednocześnie wykazano sezonową zmienność udziału procentowego wad podrzędnych plemników. W okresie okołorykowiskowym, od połowy września do połowy października, nasienie wykazywało najniższy poziom wad podrzędnych, od około 5% do 10%. Od końca listopada liczba tych wad w ejakulatach stopniowo zwiększała się, osiągając wartości maksymalne przekraczające 50% w miesiącach zimowych. Interesujący jest fakt zmienności wymiarów plemników u badanych zwierząt. Badane prawidłowe plemniki, pod względem morfologicznym, wykazywały istotnie statystycznie większą powierzchnię główek w okresie szczytu rykowiska (połowa września–koniec października), związaną ze zwiększeniem się ich długości i szerokości. Zjawisko to obserwowano zarówno w okresie poprzedzającym rykowisko, jak i w okresie sezonowego wyciszania się aktywności rozrodczej. Nie zauważono okresowych różnic dotyczących długości wstawki czy też witki (20).

Za jedną z przyczyn zaburzeń spermatogenezy, a w konsekwencji przyczynę polimorfizmu główek plemników i wzrostu liczby wad głównych w nasieniu uznaje się niski poziom testosteronu. Przeprowadzone liczne badania z tego zakresu zostały wykonane na zwierzętach domowych i potwierdzone np. na dużych kotowatych (4). Natomiast w badaniach na kretoszczurach (*Cryptomys damarensis*) zauważono, że nie ma istotnej różnicy w poziomie testosteronu pomiędzy osobnikami z prawidłową, oligo- czy azoospermią (23). Wyniki te jednak należy uznać jako specyficzne tylko dla tego gatunku.

Wiele gatunków bezkręgowców produkuje dwa typy plemników o różnej długości, z których mniejsze mają za zadanie zapłodnić komórki jajowe (12, 29, 30). W przypadku ssaków osobnicze zróżnicowanie wielkości plemników również jest odnotowywane, jednak niezwykle rzadko. Breed i Taylor (13) zauważyli, że w obrębie przedstawicieli rodziny myszowatych występują charakterystyczne zależności pomiędzy kształtem główki i długością witki. Większość gatunków charakteryzujących się plemnikami o haczykowatym kształcie główki posiada relatywnie długie witki plemników (130-190 μm). Jednak główki plemników kilku gatunków myszowatych (*Bandicota* z Azji, *Aethomys* z Afryki i *Psedomys* z Australii) nie wykazują haczykowatego kształtu główki, a witki są relatywnie krótkie (60-90 μm). Co więcej, wymienione gatunki charakteryzują się wewnątrzosobniczym zróżnicowaniem wielkości i kształtu jądra plemnika oraz akrosomu, co pociąga za sobą zróżnicowanie wielkości i kształtu główek plemników, czyli ich polimorfizm. Podobne wyniki uzyskano w badaniach nad morfologią plemników bobra europejskiego. Opisano, że część szczytowa akrosomu jest niezwykle wydłużona i zwinięta poprzecznie do osi podłużnej plemnika



Ryc. 4. Przekrój poprzeczny przez główkę plemnika bobra europejskiego. Mikroskop elektronowy transmisyjny, Bar = 1 µm

(ryc. 4). Tak niezwykle uformowana struktura powoduje zniekształcenie obrysu główki plemnika, dlatego też w tym konkretnym przypadku można wyróżnić aż 12 kategorii plemników, które można uznać za prawidłowe pod względem morfologicznym (6-8). Ponadto u opisanych gryzoni monogamicznych wykazano również wewnątrzosobnicze zróżnicowanie w zakresie długości witki, a zwłaszcza wstawki. Badacze sugerują, że indywidualne zróżnicowanie długości plemników, a zwłaszcza wstawek, jest związane z różnym poziomem energii pochodzącej z mitochondriów, a co za tym idzie, z różną ruchliwością plemników. Jak dotąd nie udowodniono, że plemniki z dłuższą wstawką szybciej poruszają się w drogach rodnych samicy, prowadząc do skutecznego zapłodnienia. Holt i Van Look (21) wskazują, że taki mechanizm jest możliwy, tłumaczą go jednak możliwością różnic na poziomie błonowym.

Interesującą hipotezę zaproponowali Breed i Taylor (13). Według nich gatunki gryzoni wykazujące polimorfizm główek plemników są to gatunki monogamiczne, o relatywnie niskim udziale procentowym masy jąder w masie ciała. Obserwację tę badacze tłumaczą niskim poziomem konkurencji (intermale sperm competition), a co za tym idzie, rozprzężeniem ewolucyjnej kontroli nad morfologią plemników. Zakłada się bowiem, że wysoki poziom współzawodnictwa pomiędzy plemnikami kilku samców, występujący u kręgowców poligamicznych, prowadzi do zaostrzenia selekcji w kierunku produkcji wysokiej jakości, monomorficznych plemników z witkami o podobnej długości (9, 25). Opisywaną hipotezę potwierdzają badania wykonane na bobrze europejskim (6, 8).

Morfologia plemników ssaków jest jednym z ważniejszych parametrów nasienia świadczącym o jego jakości. Z przeprowadzonych badań własnych oraz z przeglądu dostępnej literatury wynika, że cechy charakterystyczne plemników często wykazują swoistą

specyfikę typową dla poszczególnych gatunków zwierząt. Z tego powodu brak jest możliwości utworzenia spermiogramu uniwersalnego, który pozwalałby na powszechne jego zastosowanie w praktyce.

Piśmiennictwo

1. *Afzelius B. A.*: Gustaf Retzius and spermatology. Int. J. Dev. Biol. 1995, 39, 675-685.
2. *Afzelius B. A.*: The sperm cytoskeleton and its defects. Cytoskeleton 1996, 3, 325-357.
3. *Andrabi S. M., Maxwell W. M.*: A review on reproductive biotechnologies for conservation of endangered mammalian species. Anim. Reprod. Sci. 2007, 99, 223-243.
4. *Barone M. A., Roelke M. E., Howard J., Brown J. L., Anderson A. E., Wildt D. E.*: Reproductive characteristic of male Florida panthers: comparative studies from Florida, Texas, Colorado, Latin America and North American zoos. J. Mamm. 1994, 75, 150-162.
5. *Bedford J. M., Calvin H., Cooper G. W.*: The maturation of spermatozoa in the human epididymis. J. Reprod. Fert. 1973, 18, 199-213.
6. *Bierła J. B.*: Spermatogeneza i morfologia plemników bobra europejskiego Castor fiber L., Praca doktorska SGGW. Warszawa 2007.
7. *Bierła J., Giżejewski Z., Breed W., Góral K.*: Variation in the sperm morphology and measurements from European beaver Castor fiber L. Abstr. of XXIII Congress Polish Physiological Society „Physiology without limits", 14-16.09. 2006, Warszawa. J. Physiol. Pharmacol. 2006, 57, 123.
8. *Bierła J., Giżejewski Z., Leigh C. M., Ekwall H., Söderquist L., Rodriguez--Martinez H., Zalewski K., Breed W. G.*: Sperm morphology of the Eurasian beaver Castor fiber: an example of a species of rodent with highly derived and pleiomorphic sperm populations. J. Morphol. 2007, 268, 683-689.
9. *Birkhead T. R., Immler S., Pellatt E. J., Freckleton R. J.*: Unusual sperm morphology in the European bullfinch Pyrrhula pyrrhula. Auk. 2006, 123, 383-392.
10. *Bishop M. W. H., Austin C. R.*: Mammalian Spermatozoa. Endeavour. 1957, 16, 137-150.
11. *Bishop M. W. H., Walton A.*: Spermatogenesis and the structure of mammalian spermatozoa, [w:] Marshall's Physiology of Reproduction: Spermatogenesis and the structure of mammalian spermatozoa. T. 1, Churchill Livingstone, Inc, New York 1960, 1-30.
12. *Braidotti P., Ferraguti M.*: Two sperm types in the sprmatozeugmata of Tubifex tubifex (Annelidae, Oligochaeta). J. Morphol. 1984, 171, 123-136.
13. *Breed W. G., Taylor J.*: Body mass, testes mass, and sperm size of murine rodents. J. Mammal. 2000, 81, 758-767.
14. *Cassinello J., Abaigar T., Gomendio M., Roldan R. E. S.*: Characteristic of the semen of three endengered species of gazelles (Gazella dama mhorr, G. dorcas neglecta and G. cuvieri). J. Reprod. Fertil. 1998, 113, 35-45.
15. *Crompton A. W., Taylor C. R., Jagger J. A.*: Evolution of homeothermy in mammals. Nature (London) 1978, 272, 333-336.
16. *Cummins J. M., Woodall P. F.*: On mammalian sperm dimensions. J. Reprod. Fert. 1985, 75, 153-175.
17. *Doboszyńska T., Żurowski W.*: Anatomical studies of the male genital organs of the European beaver. Acta Teriol. 1981, 26, 331-340.
18. *Fawcett D. W.*: The mammalian spermatozoon. Develop. Biol. 1975, 44, 394--436.
19. *Fickel J., Wagner A., Ludwig A.*: Semen cryopreservation and the conservation of endangered species. Eur. J. Wildl. Res. 2007, 53, 81-89.
20. *Giżejewski Z.*: Wpływ sezonu na ilościowe i jakościowe cechy nasienia jelenia szlachetnego (Cervus elaphus) z uwzględnieniem zachowania płciowego. Wydawnictwo Naukowe UWM, Olsztyn 2002, 1-49.
21. *Holt W. V, Van Look K. J. W.*: Conceps in sperm heterogeneity, sperm selection, and sperm competition as biological foundations for laboratory testes of semen quality. Reprod. 2004, 127, 527-535.
22. *Leibo S. P., Songsasen N.*: Cryopreservation of gametes and embryos of non domestic species. Theriog. 2002, 57, 303-326.
23. *Maswanganye K. A., Bennett N. C., Brinders J., Cooney R.*: Oligospermia and azoospermia in non-reproductive male Damaraland mole-rats Cryptomys damarensis (Rodentia: Bathyergidae). J. Zoology 1999, 248, 411-418.
24. *Matano Y., Matsubayashi K., Omichi A, Ohtomo K.*: Scanning electron microscopy of mammalian spermatozoa. Gunma Symposia Endocrinol. 1976, 13, 27-48.
25. *Moller A. P.*: Ejaculate quality, testis size and sperm production in mammals. Funct. Ecol. 1989, 3, 91-96.
26. *Plöen L., Courtens J. L.*: Comparative aspects of mammalian spermiogenesis. Scanning Electron Microscopy. 1986, II, 639-652.
27. *Plöen L., Ekwall H., Afzelius A.*: Spermiogenesis and spermatozoa of the European Common Shrew (Sorex araneus L.) J. Ult. Res. 1979, 68, 149-159.
28. *Pope C. E.*: Embryo technology in conservation efforts for endangered felids. Theriog. 2000, 53, 163-174.
29. *Silberglied R. E., Shepard J. G., Dickinson J. L.*: Eunuchs: the role of pyrene sperm in Lepidoptera? Amer. Nat. 1984, 123, 255-265.
30. *Snook R. R.*: Is the production of multiple sperm types adaptive? Evolution. 1997, 51, 797-808.
31. *Waites G. M. H., Johnson A. D., Gomes W. R., Vandemark N. L.*: The Testis, Academic Press, New York/London Vol. I. 1970, 241-279.
32. *Waites G. M. H., Ortavant R.*: Effects prececos d'une breve elevation de la temperature testiculaire sur la spermatogenese du belier. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 1968, 8, 323-331.
33. *Zahner V., Schmidbauer M., Schwab G.*: Der Biber. Kunst-und Buchverlag, Oberpfalz 2005, s. 133.

Adres autora: dr Joanna Beata Bierła, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; e-mail: joanna.bierla@wp.pl