

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinářských a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



Faktory ovlivňující kvalitu spermatu psa

Bakalářská práce

Autor práce: Hana Baťková

Vedoucí práce: doc. MVDr. Radko Rajmon, Ph. D.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Faktory ovlivňující kvalitu spermatu psa“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 10. 4. 2016

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala panu doc. MVDr. Radko Rajmonovi, Ph. D. za pomoc při zpracování práce, jeho cenné rady a připomínky a za čas, který mi věnoval.

Faktory ovlivňující kvalitu spermatu psa

Souhrn

Reprodukce zvířat je proces nezbytný pro další život. Bez kvalitních spermií nelze počítat s dalším kvalitním potomstvem. Tato bakalářská práce se věnuje popisu pohlavních orgánů samce, spermatu, spermatogenezi a faktorů ovlivňující sperma. Jsou zde popsány nejčastější faktory, které ovlivňují jak celý ejakulát, tak i orgány nebo procesy spojené se spermatem. Tato rešerše obsahuje popis a funkci pohlavních orgánů samce jako je šourek, varlata, nadvarlata a pyje. V kapitole o spermatu se pojednává o popisu spermie a o celkovém ejakulátu jako takovém. Spermatogeneze je velice důležitý proces a proto je tomu věnována celá kapitola, která obsahuje informace ohledně vývoje spermií a neurohumorální regulaci celého procesu. Faktory ovlivňující kvalitu spermatu u psů můžeme rozdělit do několika kategorií. Kategorie zabývající se výživou, resp. nutričními faktory působící na ejakulát, vliv hygienických faktorů prostředí a vrozené a získané poruchy plodnosti spojené se sníženou kvalitou chámu. Mezi časté nutriční látky působící pozitivně na ejakulát jsou mastné kyseliny. Vliv fotoperiody, typ bydlení, využití psa též působí na sperma. Za abnormality reprodukčního systému mohou též toxické látky, jako je například molybden a olovo. Endokrinní disruptory mají schopnost narušovat hormonální biosyntézu spojenou se spermatogenezí. V kapitole vrozených vad (vady, se kterými se zvíře narodí), je například popsán kryptorchismus, který se u psů vyskytuje poměrně často. Mezi získané poruchy patří vady, které pes nabyt během života. Patří sem kupříkladu zánět varlat a nadvarlat.

Těmto faktorům by měla být věnována pozornost a vyskytne-li se jakýkoliv problém v tomto směru, měl by být co nejdříve řešen. Je dosti pravděpodobné, že při ignorování potíží se může stav psa stát trvalým.

Klíčová slova:

Spermie, semeno, výživa, prostředí, zdraví, fertilita.

Factors affecting the quality of dog semen

Summary

Reproduction process is an essential part for survival of any animal species. One cannot expect high-quality offspring without a high-quality sperm. This thesis is specifically devoted to the description of male sex organs, sperm, spermatogenesis and factors affecting sperm. It describes the most common factors that affect the whole ejaculate, as well as organs and processes associated with the semen creation. This research provides description and functions of the male genital organs such as the scrotum, testicles and penis epididymides. Semen chapter deals with description of the sperm and the overall ejaculate as such. Spermatogenesis is very important process, and therefore has its own chapter, which contains information regarding the development of the sperm and neurohormonal regulation of the process. Factors affecting dog's semen quality could be divided into several categories. Category dealing with nutrition respectively nutritional factors affecting ejaculate, the effect of environmental hygiene factors, and congenital or acquired fertility disorders associated with decreased semen quality. Fatty acids are amongst the common nutritional substances, such as molybdenum and leads are responsible for abnormalities of the reproductive system too. Endocrine disruptors can interfere with hormone biosynthesis associated with spermatogenesis. Congenital Defects chapter (defects that animal is already born with) describes cryptorchidism that is relatively common for dogs. Obtained disorders are defects that the dog acquired during its life. These include for example inflammation of the testis and epididymis. All these factors require attention and should be actioned as soon as possible. Ignoring these issues will likely result in permanent problems.

Keywords:

Sperm, semen, nutrition, environment, health, fertility.

Osnova

1. Úvod	7
2. Cíl práce	7
3. Literární rešerše	8
3.1. Stavba a funkce pohlavních orgánů	8
3.2. Sperma psa	14
3.2.1. Patologie spermi	17
3.3. Proces spermatogeneze a jeho neurohumornální regulace	23
3.4. Výživa a kvalita ejakulátu (nutriční faktory)	29
3.5. Vliv hygienických faktorů prostředí na kvalitu ejakulátu,	31
3.6. Vrozené poruchy plodnosti spojené se sníženou kvalitou spermatu	36
3.7. Získané poruchy zdraví spojené se sníženou kvalitou spermatu	41
4. Závěr	47
5. Seznam literatury	47

1. Úvod

Po celém světě se pes stal jak společníkem tak i pracovní pomůckou člověka. Člověk psa využívá v mnoha oborech, například policie, armáda, záchranná služba atd. Chov psů je úzce spojen s reprodukcí a plodností. Zdravého jedince můžeme získat pomocí nenarušené reprodukce. Zdravá a ničím nenarušená pohlavní soustava samce je základna pro správnou reprodukci, plodnost a tím pádem i kvalitní ejakulát. Bez tohoto není možné získat nové kvalitní jedince, kteří budou dobře vykonávat svou práci a funkci, kterou po nich vyžadujeme a také jedince pro další chov. Tato rešerše by měla napomoci chovatelům psů s chovem.

2. Cíl práce

Cílem práce bude zpracovat aktuální rešerši literárních poznatků na danou problematiku se zaměřením na kvalitu ejakulátu u psů a související doporučení pro chovatele psů.

3. Literární rešerše

Ejakulát je produkt samčího pohlavního ústrojí, jeho vznik má jisté zákonitosti a kvalita může být ovlivněna řadou faktorů, k nejvýznamnějším patří nutriční faktory, způsob chovu, působení toxických látek a vnitřní a vnější poruchy plodnosti (Arthur et al., 2001).

3.1 Stavba a funkce pohlavních orgánů

Pohlavní orgány se z počátku vyvíjejí z indiferentního základu, majícího schopnost se diferencovat ve směr samčí nebo samičí podle převahy v působení maskulinních nebo femininních faktorů určených gonadálním pohlavím. Indiferentní základ je tvořen dvěma nediferencovanými gonádami, dvěma páry Wolfových a Müllerových vývodů s urogenitálním sinem. Gonády vznikají z pohlavní řasy na obou stranách dorzální břišní stěny, kam migrovaly velké primordiální zárodečné buňky z mezodermu. Zárodečný epitel pokrývající pohlavní řasy proliferuje, vchlipuje se, a tak se vytvoří primární pohlavní pruhy. Posléze dochází k pohlavní diferenciaci, jejíž směr je určen genetickým pohlavím. Diferenciace samčích gonád probíhá poněkud dříve než samičí gonády. Diferenciace vývodných pohlavních cest probíhá u samčích jedinců na základě aktivní sekrece testosteronu fetálními varlaty. Produkce testosteronu způsobuje, že z Wolfových vývodů se vyvíjejí nadvarlata, chámovod a měchýřkovité žlázy a zanikají Müllerovy vývody. U samčího jedince se ze sinus urogenitalis vytváří prostata a samčí pohlavní orgán (Jelínek and Koudela, 2003).

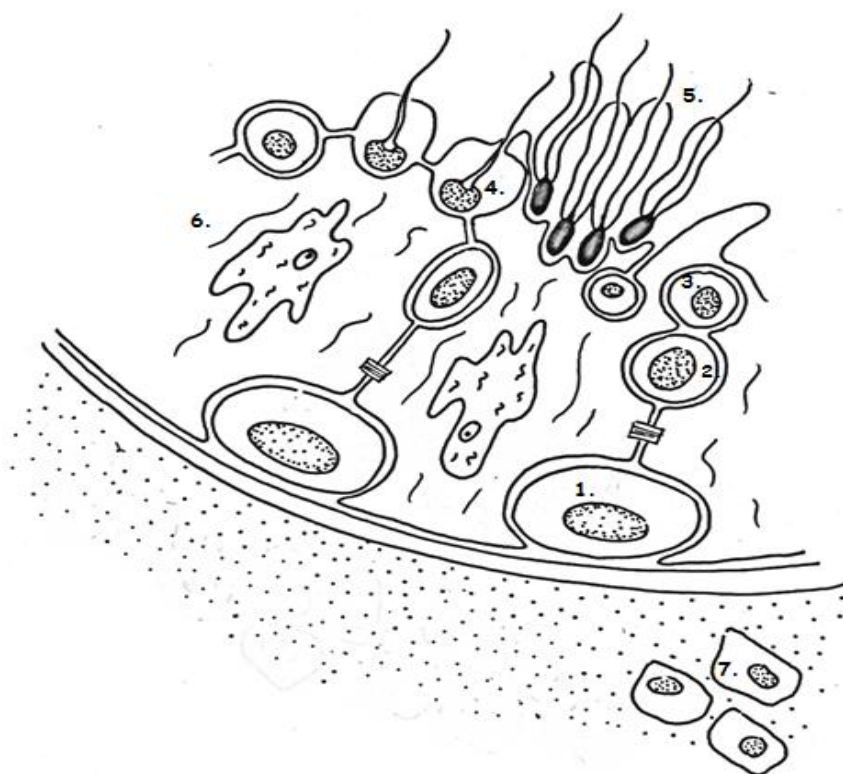
Samčí pohlavní orgány jsou tvořeny pohlavními žlázami, vývodnými cestami, přídatnou pohlavní žlázou, močovou trubicí a kopulačním orgánem. Pohlavní žlázy tvoří varlata, mezi vývodné cesty patří nadvarlata a chámovod a přídatná pohlavní žláza je prostata. Pohlavní žlázy jsou umístěny v šourku. Kopulační orgán je pyj (Jelínek and Koudela, 2003).

Šourek je vak, ve kterém je uloženo varle, nadvarle a semenný provazec. Pes má šourek posunut kaudálně až do krajiny hráze, například oproti býkovi a beranovi, kterým se nachází ve stydké krajině. Kanec má uložení šourku stejné jako pes. Šourek představuje v podstatě vychlípeninu břišní stěny a má tedy i podobnou stavbu. Na povrchu šourku je tenká kůže s hojnými mazovými a potními žlázami. Psí šourek je prakticky bez chlupů a šev není zřetelně vidět (Marvan, 2011; Feldman and Nelson, 2004). Pod kůží je podkožní svalová vrstva, která ve střední rovině vytváří přepážku. Přepážka rozděluje šourkovou dutinu na dvě poloviny.

Termoregulační mechanismus stěny šourku je zajišťován podkožní svalové vrstvě obsahující velké množství elastických vláken, citlivě reagující na změny okolní teploty smršťováním či uvolňováním hladkosvalových vláken (Jelínek and Koudela, 2003). V chladném prostředí šourek smršťuje kůži a tím se zmenšuje jeho ochlazovací plocha. Naopak v teplejším prostředí ochabuje, čímž se ochlazovací plocha šourku zvětšuje (Marvan, 2011). Teplota uvnitř šourku se udržuje o 3 – 5 °C nižší než je tělesná teplota samce. Tato nižší teplota je u savců nutnou podmínkou pro správný rozvoj procesu spermatogeneze a životnost spermií ve varleti a nadvarleti (Jelínek and Koudela, 2003). Třetí vrstvou šourkové stěny je silná vazivová blána, vnitřní povázka varlete, k níž zevnitř přirůstá tenká serózní blanka, tzv. nástěnný list poševního obalu. Na mediální straně šourku přechází nástěnný list poševního obalu ze stěny šourku na varle, nadvarle a semenný provazec, které pak pokrývá jako útrobní list. V místě přechodu obou listů je tedy varle s nadvarletem připojeno k šourkové stěně duplikaturou serózy, označovanou jako okružní varlete. Nástěnný a útrobní list poševního obalu jsou k sobě přiloženy jen volně a uzavírají mezi sebou kapilární štěrbinu, vyplněnou malým množstvím serózní tekutiny. Tato štěrbinu se nazývá poševní dutina a poševním kanálem komunikuje s pobřišnicovou dutinou (Marvan, 2011; Jelínek and Koudela, 2003).

Varlata jsou párová samčí pohlavní žláza tuhoelastické konzistence (Marvan, 2011). Vznikají retroperitoneálně v bederní oblasti oboustranně z genitální lišty, mediálně od pronefos. Varle je obaleno pevným, 1-2mm silným vazivovým pouzdrém obsahující kolagenní vlákna, v němž probíhají krevní cévy varlete. Na vazivové pouzdro naléhá viscerální list peritonea jako jednovrstevný serózní potah. Vazivové pouzdro udržuje parenchym varlat pod tlakem, takže zvětšení objemu, např. při zánětu, působí silné bolesti. Vazivové části varlete se dají rozdělit směrem od povrchu dovnitř na vazivové pouzdro, vazivová septa a vazivový střed. Z pouzdra vyzařují radiálně malá vazivová septa dovnitř varlete, která dělí parenchym varlete na pyramidovité lalůčky. Tato vazivová septa se spojují v ose varlete nebo jsou mírně posunuta směrem k nadvarleti ve vazivovém středu. Každý lalůček varlete zahrnuje dva až pět stočených semenotvorných kanálků, které slouží k tvorbě samčích zárodečných buněk. Stěna semenotvorných kanálků obsahuje podpůrné buňky a buňky zárodečného epitelu, které se diferencují během spermatogeneze ve spermie (viz. obr. 1). Podpůrné buňky, také nazývané Sertoliho buňky, složí k produkci proteinů regulujících spermatogenezi, k výživě vyvíjejících se spermií, k fagocytóze kapek cytoplazmy a k uvolnění zralých spermií do lumenu tubulů (König and Liebich, 2002). Ve spermatogenezi jsou důležité hlavně ve stádiu metamorfózy spermatid ve spermie (Jelínek and Koudela, 2003). Sertoliho buňky jsou v epitelu rozloženy jednotlivě v nepravidelných odstupech. Jsou

to vysoké štíhlé buňky, které svou rozšířenou základnou dosedají na bazální membránu a apikálním pólem dosahují lumenu kanálku. Vyznačují se jádrem ovoidního tvaru s jemně rozptýleným chromatinem a zřetelným jadérkem. Tělo podpůrných buněk vybíhá v četné dlouhé a větvící se výběžky, ohraničující dutinky, v nichž jsou uloženy spermatogenní buňky (Marvan, 2011). Ve vmezeřeném vazivu mezi stočenými semenotvornými kanálky jsou velké intersticiální buňky varlete nazývané Leydigovy buňky. Intersticiální buňky mají euchromatické jádro a výrazné jadérko. Jsou bohaté na agranulární endoplazmatické retikulum, ve kterém je produkován samčí pohlavní hormon testosteron (Jelínek and Koudela, 2003). Leydigovy buňky se rozmnožují mitoticky v řídkém pojivu varlete. Buňky se sdružují ve skupinách okolo krevních vlásečnic (Kliment, 1984). Varlata u psů mají tvar zakulacený, oproti tomu hospodářská zvířata mají varlata ze stran oploštělá a vejčitého tvaru. Na varlatech rozeznáváme hlavový konec, ke kterému se přiklání hlava nadvarlete a ocasní konec, k němuž je přiložen ocas nadvarlete. Na varlatech je část, která se nazývá nadvarletní místo. K tomuto místu se přikládá tělo nadvarlete a naproti němu se nachází volný okraj. Mezi těmito dvěma okraji leží mediální a laterální plocha varlete. Psí varlata jsou uložena mírně šikmo, hlavový konec směřuje kraniálně a volný okraj ventrokaudálně. Varlata jsou uložena v šourku, do kterého u psů sestupují po narození ve věku 8. týdne, maximálně do 9. týdne. Na rozdíl od psů přežvýkavců varlata sestupují do šourku ještě před narozením a hřebců sestupují v době porodu až během prvního týdne věku po narození. Při sestupu jsou varlata vedena vazivovým pruhem, který se táhne od předem vytvořené poševní vychlípenině až k obalu semenného provazce (König and Liebich, 2002). Prostřednictvím kormidla varlat působí na varlata síla, která je stahuje do pobřišnicové vychlípeniny (Gamčík and Kozumplík, 1984).



Obr. 1: Schématické znázornění periferie semenotvorného kanálku.

1. – Spermatogonie, 2. – Spermatocyty primární, 3. – Spermatocyty sekundární, 4. – Spermatidy, 5. – Spermie, 6. – Sertoliho buňka, 7. – Leydigovy buňky. (Zpracováno dle: Marvan, 2011; Reece, 2011; Jelínek and Koudela, 2003).

Nadvarle, další část samčího pohlavního ustrojí, se skládá ze třech částí. Tyto tři části se nazývají hlava, tělo a ocas. V hlavně nadvarlete, která je pevně spojena s varletem, se spojují vývodné kanálky ve vývod nadvarlete (König and Liebich, 2002). Rozvinutý nadvarletní vývod měří u psa 5 – 8 μm (Jelínek and Koudela, 2003). Četné kličky vývodu nadvarlete tvoří tělo nadvarlete, které je fixováno dvojitou serózní blánou k mediálnímu okraji varlete. Tímto spojením vzniká laterálně mezi varletem a nadvarletem výduť. Další část nadvarlete je ocas nadvarlete. Tato část je fixována vazy jednak k varleti, jednak ke dnu děložní vychlípenině (König and Liebich, 2002). Nadvarle je orgán, ve kterém se shromažďují spermie a funkčně zde dozrávají. Spermie vytvářené ve varleti přecházejí do hlavy nadvarlete, kde se zahušťují a jsou zde fagocytovány poškozené a přestárlé spermie. Během průchodu spermií nadvarletem se mění jejich metabolická aktivita. V hlavě nadvarlete spermie vykazují intenzivní respiraci a sníženou glykolýzu, zatímco v ocasu nadvarlete je poměr obrácený. V těle nadvarlete se

spermie setkávají se sekrety bohatými na tuky a další látky, které zvyšují odolnost jejich povrchových membrán. Spermie v nadvarletí zůstávají nepohyblivé a jejich celková metabolická aktivita je nízká. Nacházejí se zde v klidovém stavu označovaném jako anabióza, který umožňuje prodloužení životnosti spermií. Doba průchodu spermií celým nadvarletem trvá 8 -11 dní (Jelínek and Koudela, 2003).

Z ocasu nadvarlete vystupuje chámovod, který se dostává tříselným kanálem po stěně dutiny břišní do dutiny pánevní až na dorzální plochu močového měchýře (Jelínek and Koudela, 2003). Konečná část chámovodu se rozšiřuje v ampuli chámovodu. U psů není ampule makroskopicky příliš patrná, na rozdíl od přežvýkavců. Proto u psů je spíše označovaná jako žláznatá část chámovodu (König and Liebich, 2002). Žláznatá část vylučuje sekret stimulující metabolickou aktivitu spermií. Spermie se z ampulí chámovodů dostávají společně se sekretem měchýřkovitých žláz ejakulačním kanálkem do močové trubice na semenném hrbolku (Jelínek and Koudela, 2003). Chámovod je tlustostěnná párová trubice tvořená sliznicí, svalovinou a serózou (Gamčík and Kozumplík, 1984).

Další součástí pohlavní soustavy psa je močová trubice, která vystupuje při vnitřním otvoru z močového měchýře a vstupuje do močové brázdy a po průchodu pyjem vyústí na vrcholu žaludu zevním otvorem (Gamčík and Kozumplík, 1984). První kratší část močové trubice slouží pouze jako močová cesta a až následující část, uložená ještě v pánevní dutině, se rozprostírá od semenného hrbolku a vyústění vývodů prostaty kaudálně až po sedací oblouk a slouží jako cesta pro moč i semeno (König and Liebich, 2002).

Na začátek močové trubice vyústí čtyřmi vývody tubuloalveolární žláza zvaná prostata nebo také předstojná žláza (Jelínek and Koudela, 2003; Feldman and Nelson, 2004). Předstojná žláza je nepárová a leží na začátku močové trubice, kaudálně od vyústění chámovodů (Marvan, 2011; Feldman and Nelson, 2004). U psa je prostata jedinou přídatnou pohlavní žlázou. (König and Liebich, 2002; Feldman and Nelson, 2004). Sekret předstojné žlázy je vylučován při ejakulaci těsně před spermiemi a současně s nimi. Hodnota pH je druhově odlišná. PH sekretu prostaty psa je mírně kyselý. Dále sekret obsahuje volné aminokyseliny a relativně vysoký podíl anorganických solí, které udržují stejný osmotický tlak v ejakulátu a je relativně vodnatý (Jelínek and Koudela, 2003; Arthur et al., 2001). Velikost a hmotnost prostaty je variabilní a závisí na věku, plemeni a tělesné hmotnosti psa (Feldman and Nelson, 2004). Problém nastává při hypertrofii prostaty, kdy tlačí na rektum a může vést v extrémních případech k zadržení výkalů. Pes na rozdíl od ostatních domácích savců má pouze prostatu. U domácích savců se nachází ještě semenný váček a bulbouretrální žláza (König and Liebich, 2002). Hlavní funkcí přídatné pohlavní žlázy je, díky svým

sekretům, upravovat vhodné prostředí spermii při průchodu močovou trubicí a v pochvě. Vyměšované sekrety, které se při ejakulaci mísí se spermii, představují přirozené ředidlo spermii a vytvářejí podstatnou část ejakulátu. (Jelínek and Koudela, 2003, Reece, 2011).

Deportování semeno do pohlavního ústrojí samice umožňuje pyj, nebo-li penis. Pyj je současně i odvodnou cestou moče mimo tělo (Jelínek and Koudela, 2003). Penis odstupuje dvěma rameny na sedacím oblouku. Ramena se následně spojují v kořen penisu, který přechází v tělo penisu. Tělo nese na svém koci žalud. Kopulační orgán je tvořen třemi sloupcovitými topořivými tělesy. Topořivá tělesa se dělí na párová dorzální topořivá tělesa, která tvoří ramena, kořen a tělo penisu. Tělesa jsou oddělena septem, jsou složena z hrubé síťoviny topořivé tkáně a obalena vazivem. Třetí, nepárové topořivé těleso leží v močové rýze a po celé své délce obklopuje močovou trubicí. Nepárové topořivé těleso, též topořivé těleso močové trubice, se skládá z jemné síťoviny topořivé tkáně. Začíná již v pánevní části močové trubice a zesiluje se u východu z pánve ve dvoulaločný bulbus penis, který pokračuje jako obal močové trubice. Ústí se nachází na močové vychlípenině, která vyčnívá více či méně nad hrot penisu. Podle stavby dorzálních párových topořivých těles rozlišujeme dva typy penisů. Psi mají muskulokavernózní typ, protože větší krevní prostory jsou ohraničeny jemnějšími septy obsahující hladkou svalovinu. Naproti tomu přežvýkavci mají fibroelastický typ penisu, kde převažuje fibroelastické vazivo obklopující malé krevní prostory. Konec penisu je vytvořen druhově specificky. U psa je žalud rozsáhlý. Skládá se z dlouhého předního úseku a z rozšířeného kaudálního úseku. Zvláštní tvar žaludu u psa je zodpovědný za tzv. svázání obou partnerů během pohlavního aktu (König and Liebich, 2002). Specifikem psího penisu je přítomnost pyjové kosti, která vyztužuje přední část pyje (Jelínek and Koudela, 2003). Kost se také nachází v penisu kocoura. Tato orgánová kost, která nemá spojení s kostrou, vzniká osifikací distálních konců párových distálních topořivých těles (König and Liebich, 2002).

Pyj je v době pohlavního klidu zatažen v ochranné kožní duplikatuře na spodině břicha, v tzv. předkožce. Předkožka je zevně tvořena kůží přecházející v předkožkovém otvoru ve vnitřní slizniční list s četnými mazovými žlázkami, které vyměšují předkožkový maz zvaný smegma (Jelínek and Koudela, 2003). Předkožka je ovládána předkožkovými svaly, které vznikají z kožního svalu (König and Liebich, 2002).

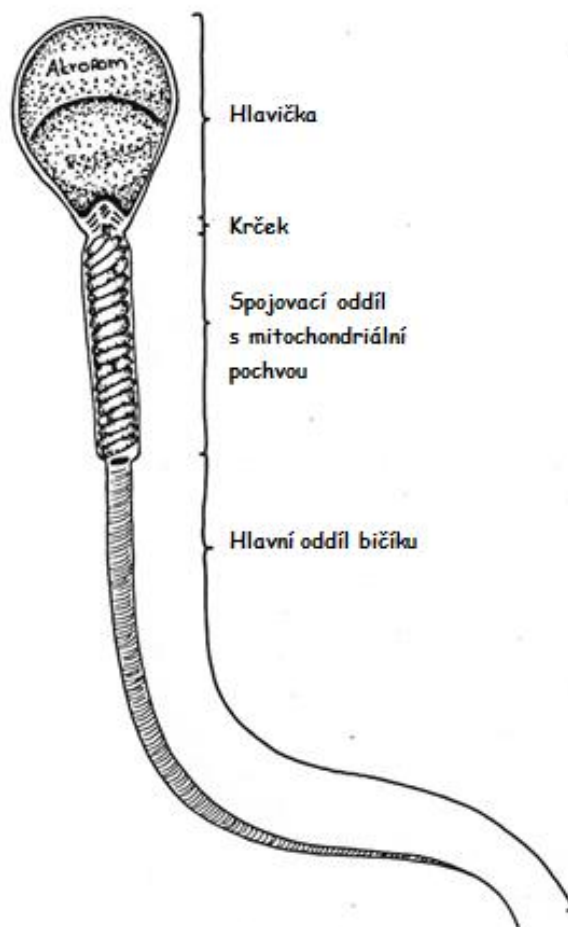
3.2. Sperma psa

Semeno, nebo také chám, ejakulát či sperma, je nejčastěji bílá nebo šedavá viskózní tekutina, skládající se z části buněčné (spermie) a tekuté (semenná plazma). Ejakulát je produkt přídatných pohlavních žláz a varlat. Složení spermatu záleží na poměru spermii a semenné plazmy. Chám psa je poměrně řídký a skládá se ze tří frakcí. První frakce (0,25 – 2 cm³) je průhledná vodnatá tekutina, o níž se předpokládá, že je sekretem uretrální sliznice – Littreových žláz. Druhá frakce má objem 0,5 – 5 cm³ a je bohatá na spermie. Třetí frakce o objemu 3 – 40 cm³ sestává z prostatického sekretu. Objem každé z uvedených frakcí je proměnlivý podle velikosti a plemenné příslušnosti psa. Semeno psa neobsahuje fruktózu a kyselinu citrónovou, protože jim schází semenné vajíčko (Gamčík and Kozumplík, 1984). Spermie tvoří nejdůležitější složku ejakulátu. Velikost psí spermie je 50 μm a hlavička má oválný tvar a je zploštělá. Jinak velikost a tvar se druhově liší. Společným hlavním znakem je pohyblivost a schopnost oplození. Se zřetelem na přítomnost sexchromozomu jsou mezi spermii nepatrné hmotnostní rozdíly. Spermie s malým heterochromozomem Y jsou lehčí než spermie s větším heterochromozomem X. Heterochromozomy Y se nazývají androspermie a heterochromozomy X gynospermie (Jelínek and Koudela, 2003).

Normální spermie se skládá ze dvou základních částí a to z hlavičky a bičíku (viz. obr. 2). Celá spermie psa je dlouhá 68,0 μm (Arthur et al., 2001; Gamčík and Kozumplík, 1984). Hlavička spermie psa je dlouhá okolo 6,8 μm, na rozdíl od jiných savců, kdy hlavička spermie býka má 10,0 μm a kocoura něco málo přes 5,0 μm (Jelínek and Koudela, 2003; Arthur et al., 2001). Hlavička spermie během spermatogeneze se zejména vytváří z jádra spermatidy, základním materiálem hlavičky je jádro (Gamčík and Kozumplík, 1984). Jádro obsahuje kondenzovaný chromatin a deoxyribonukleovou kyselinu nesoucí genetické informace pro vlastnosti nového jedince (Jelínek and Koudela, 2003). Přední část jádra pokrývá akrozom, zadní část cytoplazmatická membrána a postakrozomální čepička. Akrozom pokrývající přední část hlavičky spermie je cytoplazmatický útvar čepičkovitého tvaru, který se nachází mezi buněčnou a nukleární membránou (Gamčík and Kozumplík, 1984; Arthur et al., 2001). Je složen z mukopolysacharidů a obsahuje četné enzymy uplatňující se při pronikání spermie do vajíčka a jeho oplození (Jelínek and Koudela, 2003). Akrozom spermie nemá tak pevnou konzistenci jako ostatní části hlavičky spermie. Je citlivý na osmotické změny vnějšího prostředí. Postakrozomální čepička je útvar obalující část jádra, kterou nepokrývá akrozom. Sahá od ekvatoriálního segmentu po bázi hlavičky. Na neporušené spermii je spojená

s buněčnou membránou. Postakrozomální čepička je mnohem odolnější vůči vnějším vlivům než akrozom (Gamčík and Kozumplík, 1984). Bazální část hlavičky je prohloubená v podobě implantační jamky hlavičky, do níž se vkládá hlavice bičíku, která slouží ke spojení bičíku s hlavičkou (Marvan, 2011; Arthur et al., 2001).

Skladba bičíku je uzpůsobena k pohybu spermie (Marvan, 2011; Arthur et al., 2001). Je dlouhý 61,0 μm (Jelínek and Koudela, 2003). Bičík jako ústrojí pohybu zprostředkovává transport spermie na místo oplodnění. Další důležitou úlohu má mitochondriální aparát, který vyrábí energii (ATP), a komplex axiálních vláken, který tuto energii mění na mechanickou, neboli na pohyb spermie. Bičík spermie se dělí na několik částí, které se odlišují lokalizací, strukturou a funkcí (Gamčík and Kozumplík, 1984). Některé publikace bičík dělí na spojovací oddíl, hlavní oddíl a koncový oddíl (Jelínek and Koudela, 2003) a jiné zas na centriolový neboli implantační oddíl pro krček spermie a mitochondriální pro střední oddíl. Lépe vystihuje strukturu resp. funkční podstatu jednotlivých částí druhé dělení. Implantační oddíl je z hlediska struktury a vývoje nejsložitější částí spermie. Jeho morfologický základ tvoří dva centrioly a tzv. segmentované provazce. Centrioly jsou distální a proximální (Gamčík and Kozumplík, 1984). Plně zachovaný proximální centriol se nachází v homogenní cytoplazmatické hmotě v implantační jamce hlavičky. Někdy je tato část označována jako krček (Marvan, 2011). Distální centriol je obklopen devíti příčně segmentovanými provazci neboli chordami. Z distálního centriolu vystupuje osově vlákno tvořené 9+2 duplety mikrotubulů. Mitochondriální oddíl bičíku navazuje na centriolový oddíl. Je charakterizován přítomností značného počtu mitochondrií (Jelínek and Koudela, 2003). Jedna mitochondrie tvoří asi $\frac{3}{4}$ závitů spirály a celá mitochondriální pochva vytváří asi 65 – 75 závitů (Gamčík and Kozumplík, 1984). Hlavní oddíl bičíku je nejdelší a jeho podkladem podobně jako v předcházejícím mitochondriálním oddílu je osově vlákno obklopené nesegmentovanými chordami a obalené fibrózní pochvou z homogenní a silně kontrastní hmoty. Jejím úkolem je zabezpečovat soudržnosti osových vláken a jejich pevnost a pružnost při kmitání bičíku. Koncový oddíl je nejdálší část bičíku spermie. Osově vlákno není už obalené pochvou, ale pouze cytoplazmatickou membránou (Jelínek and Koudela, 2003).



Obr. 2. – Stavba spermie (Zpracováno dle: Arthur et al., 2001; Feldman and Nelson, 2004; Jelínek et al., 2003; Kliment et al., 1983).

Celá spermie, tj. hlavička a všechny oddíly bičíku, je pokryta nepřerušovanou dvouvrstevnou cytoplazmatickou membránou, která představuje základní ochranu spermie. Je acidorezistentní, vysoce permeabilní a citlivá na změny osmotického tlaku. Permeabilita membrány umožňuje látkovou výměnu spermií (Jelínek and Koudela, 2003).

Jak již bylo výše zmíněno, ejakulát obsahuje dvě složky, spermie a semennou plazmu. Semenná plazma obsahuje převážně sekrety přídatných pohlavních žláz. Je to tekutina druhově specifického množství a barvy, rozdílného pH a konzistence (Jelínek and Koudela, 2003). Prostatická frakce psa má pH 7,0-7,4. Zásaditá reakce sekretu prostaty zvyšuje motilitu spermií a neutralizuje kyselé prostředí v pochvě (Feldman and Nelson, 2004; Svoboda, 2000; Reece, 2011). Představuje přirozené prostředí pro spermie, umožňuje jejich výživu a transport v pohlavních orgánech samice. Má relativně stálý osmotický tlak a vyznačuje se velkými

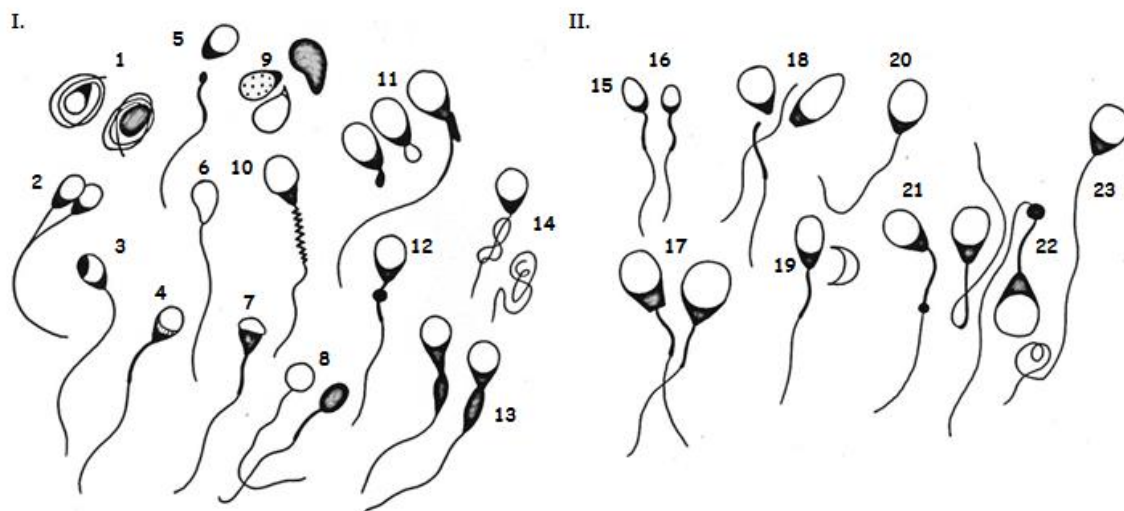
pufračními schopnostmi. Obsahuje minerální látky, bílkoviny, kyselinu citronovou a askorbovou, četné enzymy a kromě dalších látek i biologicky aktivní složky jako jsou prostaglandiny, estrogény a androgeny (Jelínek and Koudela, 2003; Reece, 2011; Kliment et al., 1983). Stálou a nekolísající složkou je fruktóza. Výhodou fruktózy jako energetického zdroje může být skutečnost, že do buněk vstupuje, na rozdíl od glukózy, pasivním transportem. V semenné plazmě je přítomno několik prostaglandinů. Pomáhají dvěma způsoby. Prostaglandiny reagují s hlenem sliznice děložního krčku a upravují jej pro průchod spermií a některé z přítomných prostaglandinů způsobují zpětné kontrakce hladké svaloviny a existuje názor, že tím v děloze a vejcovodech napomáhají transportu spermií směrem k vaječníkům (Reece, 2011). Semenná plazma rovněž stimuluje pohyb spermií (Jelínek and Koudela, 2003; Reece, 2011; Kliment et al., 1983). Tvorba semenné plazmy v prostatě není plynulá, tvoří se a uvolňuje reflektoricky ve chvíli odběru spermatu. Její množství z velké části závisí na produkci testosteronu a na stupni pohlavního podráždění (Kliment et al., 1983).

Aby ejakulát mohl být kompletní a exportován do samičího pohlavního ústrojí, musí u samce fungovat erekční a ejakulační reflex. Peristaltické pohyby během ejakulace jsou způsobené hladkosvalovými buňkami ve stěně kanálku nadvarle a chámovodu. Transportují semenné buňky kontinuálním tokem směrem k ampule chámovodu. Sekretorická aktivita epitelové výstelky kanálku nadvarlete je stimulována androgenními hormony (König and Liebich, 2002).

3.2.1. Patologie spermií

Odpovídající tvar spermií je důležitý nejen pro uchování oplozovací schopnosti, ale i pro normální vývoj budoucího jedince (Gamčík et al., 1984). Psi mívají obecně morfologicky normálních spermií více jak 70 % v ejakulátu. Primárně abnormálních spermií by mělo být méně než 10 % a sekundárně abnormálních méně jak 20 % u zdravého psa (Fedman and Nelson, 2004). Morfologické utváření spermií, koncentrace a některé patologické formy spermií jsou vlastnosti ejakulátu podmíněné hereditárně. Patologické formy spermií podmíněné hereditárně se mohou týkat akrozómu, hlavičky a jednotlivých částí bičíku (Gamčík et al., 1984). Rozdělení genetických vad spermií je několik. Např. podle místa vady na spermii, podle místa vzniku defektních spermií a další (Arthur et al., 2001). Defekty spermií klasifikované podle místa vzniku se dělí na primární, sekundární (Chenoweth, 2005;

Arthur et al, 2001) a terciální (Arthur et al., 2001). V této klasifikaci jsou vady, které vznikly v průběhu spermatogeneze, považovány za primární (Chenoweth, 2005; Feldman and Nelson, 2004; Arthur et al., 2001). Sekundární vady jsou ty, které byly způsobené v nadvarleti, a terciální defekty vznikají po ejakulaci špatnou manipulací se spermatem - např. nedostatečná teplota, pH nebo osmotický tlak (Arthur et. al., 2001; Feldman and Nelson, 2004). Mezi primární defekty spermií patří vady hlavičky a spojovací části bičíku. Sekundární defekty jsou vady v podobě protoplazmatických kapek a smyčky na bičíku jsou terciální defekty (Arthur et al., 2001). Primární vady spermií jsou považovány za více způsobující samčí neplodnost než sekundární vady. Vady spermií se také dají dělit na hlavní a vedlejší (viz. obr. 3). Za hlavní vady spermií jsou považovány vady, které způsobují poruchu plodnosti a vedlejší defekty spermií jsou obecně vady, které jsou považovány za méně účinné na samčí plodnost (Chenoweth, 2005). Hlavní abnormality zahrnují většinou vady hlavičky, proximální protoplazmatické kapky a vrozené vady akrozomu. Většina ostatních vad, překvapivě i včetně oddělení hlavičky, jsou vady klasifikované jako vedlejší vady (Arthur et al., 2001). Hlavní vady mají definovaná kritéria, například výskyt vad v určitém procentu z celkového počtu spermií, jejich výskyt je neměnný, vady jsou spojeny se samčí neplodností či sterilitou a mohou být dědičné (Chenoweth, 2005). U psů ejakulát vykazuje vyšší procento abnormálních spermií s vedlejším defektem, aniž by docházelo k ovlivnění plodnosti, zatímco například u berana je přijatelné jen velmi nízké procento (Arthur et al., 2001).



Obr. 3. : Klasifikace abnormalit spermií na hlavní a vedlejší vady v závislosti na jejich vlivu na plodnost. Hlavní vady (I) zahrnují: 1-zaostalé buňky, 2-dvojité formy, 3-vada akrozomu, 4-diadém vada, 5-dekapitovaná spermie, 6-hlavička úzká u báze, 7-hlavička s abnormální konturou, 8-malé abnormální hlavičky, 9-dekapitované abnormální hlavičky, 10-„vývrtkovitý defekt“ na spojovací části bičíku, 11-další vady spojovací části bičíku, včetně „pahýl bičíku“ vady, 12-proximální cytoplazmatická kapka, 13-pseudokapky a jiné zesílení spojovací části bičíku, 14-stočené nebo silně přeložené bičíky (včetně „Dag“ defektu). Drobné vady (II) zahrnují: 15-úzké hlavička, 16-malá, normální hlavička, 17-obří a krátká hlavička a široká hlavička, 18-oddělené normální hlavičky, 19-samostatně oddělené akrozomální membrány, 20-abaxiální implantace bičíku, 21- distální kapky, 22-jednoduše ohnutý bičík, 23-terminálně stočící bičík (Zpracováno dle: Arthur et al., 2001).

Pro normální plodnost spermie jsou nezbytné dva aspekty morfologie hlavičky. Za prvé tvar hlavičky, protože i malé změny v celkové velikosti, akrozomální oblasti a šířce na čepičce hlavičky výrazně snižují schopnost spermie oplodnit vajíčko. Za druhé důležitá morfologie a stálost akrozomu. Proto většina abnormalit hlavičky spermií je považována za hlavní vady, protože má zásadní vliv na plodnost. Většina těchto vad vzniká ve varlatech při anormální spermatogenezi (Arthur et al., 2001). Jedna z možných vad spadající pod defekty hlavičky je dekapitace spermií. Dekapitace spermií, nebo také dezintegrace, je oddělení hlavičky spermie od bičíku a může být způsobena řadou nepříznivých faktorů ovlivňující buď spermatogenezi nebo dozrávání spermií (Chenoweth, 2005). Vada má za následek neplodnost samce a vzniká působením jednoduchého recesivního genu a je vázána na pohlaví.

Diferenciálně diagnosticky je nutno odlišit podobné změny, které vznikají při zánětlivých onemocnění varlat a nadvarlat nebo artefakty, které vznikají při nesprávně prováděných nátěrech spermií (Gamčík et al., 1984). Proto byly navrženy následující charakteristiky dekapitace spermií, které svědčí o této specifické abnormalitě spermií. První charakteristikou / podmínkou je, že v celém ejakulátu musí být spermií s oddělenou hlavičkou od bičíku 80 – 100%. Dalšími příznaky jsou vysoké procento volných bičíku vykazujících aktivní pohyb a častý výskyt proximálního ohnutí střední části kolem cytoplazmatické kapky (Chenoweth, 2005).

Dalším defektem je obří hlavička spermie. Tato vada způsobuje, že spermie často bývají diploidní, občas triploidní nebo dokonce tetraploidní (Arthur et al., 2001). I přesto, že není úplně jasný vliv vady na plodnost, je jasné, že lze předpokládat ohrožení plodnosti spermií s abnormálním počtem chromozomů (Chenoweth, 2005). Defektem hlavičky také může být tzv. „diadem defect“ představující váčky v jaderném materiálu. Tato vada se objevuje v malých procentech. Po úrazu varlat se může objevit krátkodobě vyšší procento takto defektních spermií a v případě trvale většího výskytu spermií s diadem vadou, se může jednat o dědičnou poruchu (Arthur et al., 2001).

Akrozomální vady také vážně ovlivňují plodnost. Mnoho akrozomálních vad vzniká jako primární abnormality při spermatogenezi, přesto defekty akrozomu mohou vzniknout i při transportu spermií do nadvarlete nebo dokonce i po ejakulaci. Mnoho z akrozomálních vad, které vznikají v průběhu spermatogeneze, je ve vysokém procentu přítomno v ejakulátu v případě, že porucha je zděděná, ale identické abnormality lze nalézt v nízkých procentech ve většině ejakulátů, což znamená, že mohou také vznikat spontánně (Arthur et al., 2001). Z hereditárních vad akrozomu jde o tzv. perzistující akroblast. Vada se jeví jako kuličkovitý útvar zasazení v předním okraji nebo přečnávající přes přední okraj hlavičky spermie. U této vady jsou současně patrné i další změny jako zúžení báze hlavičky, abaxiální nasazení bičíku, větší výskyt protoplazmatických kapek apod. Podle počtu poškozených spermií může dojít ke snížení plodnosti až k neplodnosti postiženého samce. Objem ani barva ejakulátu nebývají změněny a rovněž tak koncentrace a motilita spermií se nemusí vymykat z rámce fyziologických norem. Na varlatech ani při histologickém vyšetření nejsou známky zánětlivého procesu. Pro stanovení diagnózy je rozhodující morfologické posouzení spermií (Gamčík et al., 1984). Může se také vyskytnout vada označovaná jako neúplný akrozom. Akrozom má nepravidelný okraj, což způsobuje dojem, že část akrozomu chybí nebo je neúplný (Chenoweth, 2005).

Abnormality v upevnění hlavičky spermie jsou obecně primárními vadami spermatogeneze. Některé z nich jsou zděděné vady centriolu nebo axonemy vyskytující se ve vyšším procentu, zatímco jiné jsou ojedinělé nebo se vyskytují jako vady získané. Překvapivě mnoho takových vad má malý vliv na plodnost, není-li přítomna ve vyšším procentu. Oddělená hlava od bičíku je obvykle získaná vada vyskytující se zejména při degeneraci varlat. Spermie s oddělenými hlavičkami mohou být přítomny v semeni samce, u kterého nebyla značnou dobu ejakulace a spermie jsou v nadvarletí přestárlé. Spermie s narušeným připojením mezi hlavičkou a bičíkem mohou vznikat výše zmíněným stárnutím nebo v důsledku vrozeného slabého spojení. Většina ostatních vad vývoje spojovací části bičíku a bičíku je z hlediska plodnosti závažným problémem, protože deformace bičíku brání pohybu celé spermie (Arthur et al., 2001). Vadou označovanou jako „Dag“ defekt je stav, kdy bičík je silně ohýbaný, stočený a s častými lomy na distální části spojovací části bičíku spermie. Vada se může projevit s nebo bez zadržené distální cytoplazmatické kapky (Chenoweth, 2005). Původně byl tento stav řazen mezi dědičně podmíněné příčiny poruch plodnosti samců, později však bylo uvedeno, že příčinou tohoto stavu je nadbytek zinku. Toto sdělení odpovídá nálezům řady autorů, kteří nikdy nenašli spermie s vícekrát stočeným bičíkem ve varlatech, ale až v ocasu nadvarlete (Gamčík et al., 1984). Tento defekt spermií může být odrazem poruchy varlat nebo nadvarlat. V normálním ejakulátu spermie s „Dag“ defektem mohou být přítomny v malém množství (< 4 %). Nad 50 % defektních spermií v ejakulátu může mít vážné důsledky na plodnost (Chenoweth, 2005).

Další méně výrazné, ale přesto závažné, jsou vady vyskytující se na spojovací části bičíku. Ty zahrnují např. vývrtkovitou vadu (Arthur et al., 2001). Vývrtkovitý defekt vzniká jako důsledek uvolnění mitochondriální spirály. Spermie mají drsný, rozbrázděný povrch mitochondriálního oddílu a v ní nepravidelně rozmístěné mitochondrie (Gamčík et al., 1984). Vada může být dědičného charakteru, jestliže se v ejakulátu vyskytuje ve vyšším procentu (Arthur et al., 2001).

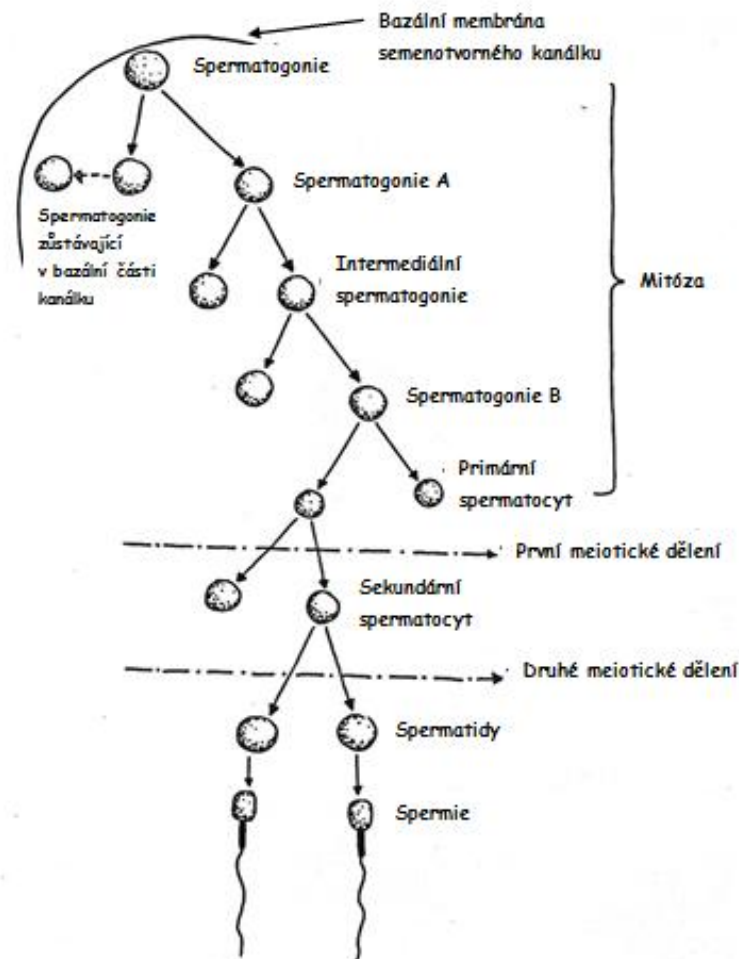
Defekty bičíku jsou oproti jiným vadám obecně drobné defekty. Mezi ně patří stočené bičíky, které mohou být způsobeny abnormální spermatogenezí anebo špatnou funkcí nadvarlat. Nejčastěji se vada vyskytuje jako reakce na špatnou regulaci teploty spermatu nebo na hypotonický stres při kontaminaci spermatu vodou. Pokud se pH hodnoty dostanou mimo normu, může dojít ke vzniku smyček mohou vzniknout smyčky na bičíku. To pak může být indikátorem zvýšených pH hodnot, ke kterým dochází při infekci přídatných žláz. (Arthur et al., 2001). „Pahýl bičíku“ je defekt spermie, kdy skutečně chybí spermii spojovací část bičíku

a bičík u většiny spermií v ejakulátu. Místo bičíku a spojovací části bičíku je malý pahýl (Chenoweth, 2005).

Protoplazmatické kapky jsou tvořeny zbytkovou cytoplazmou, která se odstraní ze spermie při průchodu spermií skrz nadvarle. Dochází k vyzářující změně na spermiu. Přítomnost spermií s protoplazmatickou kapkou znamená, že v době ejakulace není dokončené zrání spermií v nadvarletu. Spermie s protoplazmatickými kapkami v blízkosti hlavičky (proximální kapky) jsou nezralé, na rozdíl od spermií s kapkami na distálním konci spojovací části bičíku (distální kapky). Protoplazmatické kapky jsou pozorovány u samců, kteří příliš často ejakulují. U mladých samců je denní výroba spermií nižší než u plně dospělých jedinců a kromě toho nadvarlata nejsou zcela dovyvinuta a nedosahují tedy celé své délky. Proto, pokud je mladý samec používán nadměrně, není problém pouze v nízkém počtu spermií v ejakulátu, ale také v předčasném opuštění spermií z ocasu nadvarlete a to vede často k funkčně nezralým spermiím. Diskutována byla i možnost, že proximální kapky mohou také vznikat jako primární abnormality při spermatogenezi (Arthur et al., 2001).

Nekvalitní ejakulát můžeme řadit do několika kategorií. Azoospermie je stav, kdy ejakulát postrádá spermie a je tvořen pouze semennou plazmou (Memon, 2007). Velikost varlat u pravé azoospermie zůstává v mnoha případech beze změny (Frontbone, 2011). Azoospermie je většinou získané onemocnění, které se vyvíjí sekundárně k dysfunkci gonád, zejména u idiopatické degenerace varlat (Feldman and Nelson, 2004). Tato porucha je uváděna jak u čistokrevných psů, tak i u kříženců (Memon, 2007). Oligospermie je pojem vyjadřující celkové snížení počtu spermií v ejakulátu. Pro oligospermii je typická koncentrace spermií v ejakulátu menší než 100×10^6 . Morfologie spermií přitom zůstává buď normální, nebo se objevují ve větší míře patologicky změněné spermie. Častými příčinami oligospermie jsou neúplná ejakulace, sexuální přetěžování, bilaterální obstrukce semenného provazce, zánět nadvarlat, dysfunkce gonád atd. V závislosti na případném rozšiřování patologického procesu po pohlavním traktu samce může tento stav přejít až v azoospermii (Feldman and Nelson, 2004; Svoboda, 2000). Teratospermie představuje zvýšení počtu abnormálních spermií v ejakulátu. Celkový počet spermií, pohyblivost spermií a semenná plazma mohou být normální nebo abnormální, v závislosti na základní příčině (Feldman and Nelson, 2004). Astenospermie označuje sníženou motilitu spermií v ejakulátu. Spermie, které se pohybují v malých kruzích nebo ze strany na stranu bez progresivního pohybu vpřed, nejsou normální. Není známo procento, jaké procento spermií s abnormální motilitou způsobí u psů infertilitu (Feldman and Nelson, 2004; Svoboda, 2000). Samec je klasifikován jako astenospermický v případě, že jeho ejakulát vykazuje méně jak 25 % spermií s normální pohyblivostí a

koncentrace spermií je v normě. Astenospermie může být způsobena primárními defekty nebo enzymovými nedostatky (Feldman and Nelson, 2004). Možné je i spojení několika poruch dohromady, např. oligoastenoteratozoospermie = OAT (Fontbonne, 2011).



Obr. 4. – Spermatogeneze (Zpracováno dle: Feldman and Nelson, 2004; Reece, 2011; Kliment et al., 1983).

3.3. Proces spermatogeneze a jeho neurohumorální regulace

Spermatogeneze je základní proces mužské reprodukce (Arthur et al., 2001). Jde o souhrn buněčných transformací, které probíhají v semenotvorném epitelu a vedou k produkci spermií (viz obr. 4). Proces buněčné diferenciace začíná spermatogoniálními kmenovými buňkami a pokračuje přes několik mitotických dělení a meiotického dělení a četné cytologické transformace, než se buňky stanou prodlouženými spermii (Youngquist and Threlfall,

2007). Základy semenotvorných kanálků vznikají už během embryonálního vývoje jedince v podobě pohlavních provazců, které lze rozdělit na prvopohlavní buňky (gonocyty) a podpůrné buňky. Gonocyty se rozmnožují a ještě v průběhu nitroděložního vývoje jedince se přemění na spermatogonie (Gamčík et al., 1984). Proces buněčné diference začíná kmenovými buňkami, neboli spermatogoniemi, a pokračuje přes několik mitotických dělení, meiotických dělení až po četné cytologické transformace. A to vše před konečným prodloužením spermií. Celý tento proces, zvaný spermatogeneze, začíná dosažením pohlavní dospělosti (Jelínek et al., 2003). Proces spermatogeneze se uskutečňuje v průběhu celého reprodukčního období života (Youngquist and Threlfall, 2007). Spermatogeneze v počáteční etapě ještě nemá pravidelný cyklický charakter a výsledkem je vyšší obsah nezralých forem spermií v ejakulátu. S dosažením plné pohlavní dospělosti a stabilizací neuroendokrinní regulace pohlavních funkcí probíhá spermatogeneze u psů v pravidelných cyklech v průběhu celého roku. Cykly následují za sebou v přesných časových intervalech, přičemž každý cyklus začíná asi o $\frac{1}{4}$ délky cyklu později než předchozí. Délka jednoho spermatogenního cyklu je druhově rozdílná. U psa se pohybuje okolo 54 dní (Jelínek et al., 2003).

Spermatogeneze, nebo také vývoj spermií, lze rozdělit na 3 období. Období rozmnožování, růstu a zrání, tj. meiózy a metamorfózy (Gamčík et al., 1984; Arthur et al., 2001; Neill et al., 2006). Fáze rozmnožování představuje mnohonásobné dělení a postupnou diferenciaci buněk. Vznikají spermatogonie trojího typu. A-spermatogonie jsou první typ a jsou to kmenové mateřské buňky (Neill et al., 2006). Nacházejí se na obvodu semenotvorných kanálků. Jsou to velké buňky kulatého tvaru s malým množstvím cytoplazmy a s difúzně rozptýleným chromatinem po celém povrchu jádra. Jádro mají velké kulatého tvaru a excentricky uložené. V nukleoplazmě je možné vidět světlou vakuolu, která obsahuje glykogen. Každá mateřská buňka A – spermatogonie se rozdělí na dvě nestejně velké dceřiné buňky. Jednu větší podobnou mateřské buňce, která zůstává po delší dobu v interfázi a druhou menší intermediální buňku (Jelínek et al., 2003). IM – spermatogonie je podobná mateřské buňce, s tím rozdílem, že má menší jádro, které je bohatší na chromatin (Gamčík et al., 1984). Pokračováním mitózy vzniká třetí typ spermatogonií a to typu B. Jsou to buňky s hrubou membránou jádra a s kratšími chromozómy, než měly předcházející typy (Neill et al., 2006). Zdvojnásobují svou velikost a dalším dělením z nich vznikají spermatocyty I. řádu. Přibíráním zásobních látek se zvětšují a začíná stádium růstu. Všechny typy spermatogonií obsahují diploidní počet chromozómů - $2n$ (Kliment et al., 1983; Reece, 2011). Dalším obdobím je fáze zrání. Období zrání je charakterizováno dvěma po sobě následujícími meiotickými děleními a výsledkem je redukce počtu chromozómů na polovinu. Diploidní

počet chromozomů se mění na haploidní a současně dochází k rekombinaci genetických vloh. Vstupují do ní spermatocyty I. řádu a v prvním meiotickém dělení vznikají dva spermatocyty II. řádu (Jelínek et al., 2003). Spermatocyty I. řádu jsou velké kulaté buňky s velkým jádrem a postupují od obvodu semenotvorných kanálků směrem do středu, vytvářejí druhou řadu semenotvorných buněk (Gamčík et al., 1984). Druhým meiotickým dělením vznikají čtyři spermatidy. Jsou charakterizovány přítomností vždy jen jednoho sexchromozomu, a to buď X chromozomu nebo Y chromozomu. Poměr spermatid s jednotlivými sexchromozomy je 50 : 50. Poslední fází spermatogeneze je období metamorfózy, při níž se okrouhlá a nepohyblivá spermatida mění ve štíhlou, kopinatou a pohyblivou spermii (Jelínek et al., 2003). Metamorfóza, také označována spermiohistogeneze, je proces spermie, aby byla schopna aktivně proniknout do vajíčka vnést do něho otcovské geny (Marvan, 2011). Spermiohistogeneze probíhá ve výběžcích Sertoliho buněk. Spermatidy se už dále nedělí a tak vzniká stejný počet spermií, jako byl počet buněk v poslední fázi spermatocytogeneze/meiozy (Kliment et al., 1983). V metamorfóze se zachovává genetický potenciál, přičemž se jádro spermatidy změni na hlavičku, z cytoplazmy vznikají obaly a z organel bičík. Podle chronologických změn se rozděluje metamorfóza na Golgiho stadium, stadium akrozomové čepičky, stadium kaudální manžety a stadium zrání. V Golgiho stadiu se na předním pólu jádra z Golgiho aparátu vytváří akrozom, který je nositelem enzymů rozpouštějících zónu pelucidu a cytoplazmatický obal vajíčka umožňujících penetraci spermie do vajíčka a následné oplození (Jelínek et al., 2003). Hyaluronidáza, akrozin, proakrozin, kyselá fosfatáza a proteináza jsou příklady enzymů obsahující akrozom. Jeden z centriolů nacházejících se v buňce se přikládá k buněčné membráně a z něho začnou vyrůstat vlákna bičíku (Gamčík et al., 1984). Po Golgiho stadiu nastupuje fáze akrozomové čepičky. Z akrozomového váčku vzniká základ akrozómu, který se zvětšuje a přikládá na jádro, a potom jako akrozomová čepička pokrývá celou přední polovinu jádra spermatidy. Centrioly se dostávají do protilehlého postavení s akrozomem. Distální centriol, ze kterého vyrůstají osová vlákna bičíku se nazývá flagelotvorný centriol. Z proximálního centriolu vzniká takzvaný Jensenův kroužek, který odděluje mitochondriální a hlavní oddíl bičíku spermie. Centrioly se postupně přemísťují do blízkosti jádra, přičemž tahají za sebou cytoplazmatickou membránu. Takto se vytváří jakýsi kanál, v kterém se vyvíjí bičík. Kromě toho proximální centriol vytváří kloubové spojení mezi jádrem budoucí spermie a bičíkem. K těmto strukturám patří tzv. segmentované chordy, které se upínají na proximální centriol a spolu s distálním centriolem vytváří hlavičku bičíku. Dalším stadiem metamorfózy je stadium kaudální manžety. Kulaté jádro spermatidy se mění na plochou hlavičku spermie. Vzniká kaudální manžeta, která začíná na zadním okraji akrozomové čepičky, přechází nad

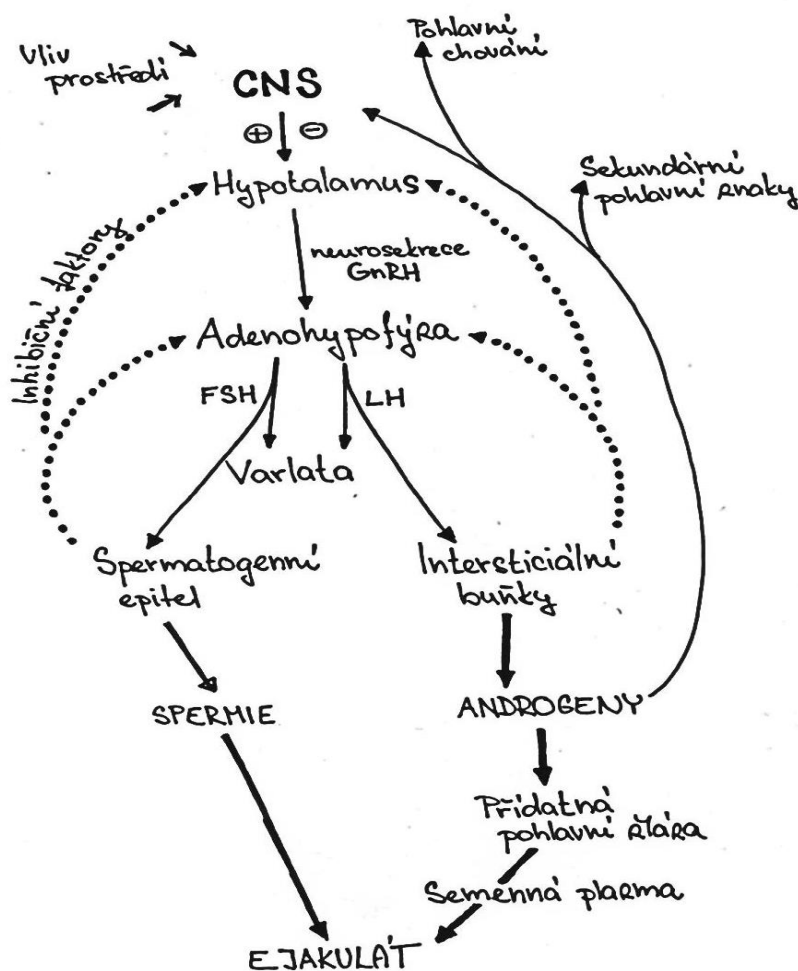
kaudální polovinou jádra v podobě cylindru a zasahuje až do začátečních úseků bičíku. Ve fázi kaudální manžety se dokončuje tvarování jádra a kondenzace nukleoplazmy. Původní vláknitá struktura nukleoplazmy se mění na granulární a později na homogenní. Když se rozplývá kaudální manžeta předních částí jádra a ztrácí se, značí to začátek stádia zrání. Dokončuje se vývoj bičíku a akrozomu. Mitochondrie, které byly volně rozptýlené v cytoplazmě se začínají prodlužovat a ukládat se cirkulárně okolo vláken bičíku. Tím se vytváří mitochondriální oddíl bičíku. V této fázi se spermatida zbavuje posledních zbytků cytoplazmy a nepotřebných organel. Při odstraňování zbytků se nejvíce uplatňují Sertoliho buňky (Jelínek et al., 2003). Mají kromě podpůrné a vyživovací funkce také fagocytární schopnost. Metamorfozované spermie se uvolňují z výběžků podpůrných buněk a dostávají se do lumenu semenotvorných kanálků a do vývodných cest (Jelínek et al., 2003; Neill et al., 2006).

Výsledkem činnosti specializovaných pohlavních orgánů je celý proces rozmnožování a pohlavní funkce. Jejich řízení avšak podléhá extragenitálním strukturám, zejména hypotalamo-hypofyzárnímu systému. Tato neuroendokrinní regulace probíhá v rámci geneticky fixovaného vnitřního řídicího systému neustále ovlivňovaného faktory zevního prostředí. Jednotlivé nervové a humorální složky podílející se na regulaci pohlavní činnosti jsou uspořádány hierarchickým způsobem. Neustále se ovlivňují i zespol nahoru, což znamená, že orgány funkčně podřízené ovlivňují rovněž orgány řídicí. Tímto způsobem vytvářejí nedělitelnou funkční jednotu a uzavření funkčního okruhu, jehož autoreglativní principy zajišťují vzájemnou rovnováhu. Řídicím orgánem pravidelného průběhu pohlavních funkcí je centrální nervový systém, jmenovitě hypotalamus a adenohipofýza. Nazýváno také hypotalamo-hypofyzární systém. Dalšími složkami reprodukčního funkčního okruhu jsou gonády a vývodné pohlavní cesty. Koordinace mezi jednotlivými složkami řízení pohlavní aktivity se uskutečňuje neurohumorálně v obou směrech, tj. odshora dolu a naopak zespol nahoru - viz. obr. 5 (Jelínek and Koudela, 2003). Hypotalamus zabírá jen velmi malou část mozku. Tvoří bazální část mezimozku a spodinu III. mozkové komory. Přenos informací mezi hypotalamem a neurohypofýzou je uskutečňován pomocí nervového spojení po axonech (Hafez and Hafez, 2000). Do těchto regulačních okruhů se zapojují i neurotransmitery centrálního nervového systému, které přenášejí stimuly a reakce mezi nervovými buňkami. Neurotransmitery jsou látky nehormonálního původu a rozdělují se na cholinergní, adrenergní a serotogenní. Tyto látky jsou bezprostředními přenašeči všech endogenních a exogenních podrážení ovlivňující sekreci GnRH (Gamčík and Kozumplík, 1984). Hypofýza se nachází v tureckém sedle a prohlubni klínové kosti. Žláza je rozdělena na přední a zadní lalok. Spojení

mezi hypotalamo-hypofýzou a adenohipofýzou je pomocí cévního řečiště. Podle typu buněk v hypofýze jsou vylučovány různé hormony. Kortikotropní buňky vylučují ACTH hormon, gonadotropní buňky FSH a LH, mammotropní buňky prolaktin, tyreotropní buňky vylučují hormon TSH stimulující štítnou žlázu a somatické buňky vylučují růstový hormon. Dále do neurohumorálního řízení reprodukce patří epifýza. Šišinka vzniká dorzálním vychlípáním třetí mozkové komory a střechy mezimozku. Savčí šišinka je endokrinní žláza. Vylučování hormonu melatoninu ze šišinky je ovlivněno délkou tmy a světla, což jí přisuzuje důležitou roli v neuroendokrinní kontrole reprodukce. Na základě délky světelného dne epifýza vyloučí hormon do krevního řečiště a mozkomíšního moku (Hafez and Hafez, 2000).

Gonadotropin releasing hormon se uvolňuje ze zadního sexuálního centra hypotalamu na základě předcházejících impulsů z předního sexuálního centra. Chemicky se jedná o decapeptid mající dva účinky, tj. FSH-RH a LH-RH, které se krevní cestou dostávají do adenohipofýzy a zde iniciují tvorbu gonadotropních hormonů. Pod vlivem hypotalamických GnRH se ve specializovaných buňkách adenohipofýzy vytvářejí dva gonadotropní hormony a to FSH a LH. Chemicky se jedná o vysokomolekulární glykoproteiny s poměrně vysokou molekulovou hmotností a jsou pohlavně nespecifické (Jelínek and Koudela, 2003). Folikuly stimulující hormon (FSH) u samců v novorozeneckém období podporuje proliferaci Sertoliho buněk, což určuje výslednou velikost varlat v dospělosti. Udržuje maximální počet zárodečných buněk a hraje roli v ukončení proliferace Sertoliho buněk před nástupem spermatogeneze. FSH podporuje organizace důležitých molekul cytoskeletu Sertoliho buněk potřebných k dokončení spermiogeneze. Gonadotropin FSH také podporuje vývoj, proliferaci a zvýšení šance na přežití spermatogonií a spermatocyt. Folikuly stimulující hormon zabraňuje apoptóze spermatocytů a spermatid a má i vliv na uvolňování spermií (Neill et al., 2006). Luteinizační hormon (LH) u samečů také označován jako intersticiální buňky stimulující hormon působí na intersticiální buňky a stimuluje tvorbu specifického pohlavního hormonu testosteronu. Testosteron je steroid a spolu s dalšími androgeny vytvářenými ve varlatech řídí vznik pohlavní a sexuální diferenciaci, stimuluje tvorbu sekundárních pohlavních znaků, růst pohlavního údu, růst a sekreční funkci přídatných pohlavních žláz, formování pohlavního pudu a samčího pohlavního chování (Jelínek and Koudela, 2003). Fyziologická koncentrace testosteronu je 50-100x větší ve varletní tkáni než v krvi (Feldman and Nelson, 2004). Dále testosteron má vliv na zrání a proliferaci Sertoliho buněk v novorozeneckém období. Zabraňuje diferenciaci spermatogonií v případě jejich vysoké lokální koncentraci. Zabraňuje buněčné smrti spermatocytů a spermatid, hlavně ve fázích VII a VIII. Testosteron je nezbytný při vývoji spermatid a podporuje přilnavost spermií na

Sertoliho buňky. Má také vliv na uvolňování spermií do lumenu semenotvorného kanálku. Celkově testosteron má velmi významný vliv na spermatogenezi v dospělosti (Neill et al., 2006). Dále testosteron reguluje růst a sekreční funkci přídatných pohlavních žláz tak, aby vylučovaly sekret během ejakulačního reflexu v přiměřeném množství a kvalitě (Gamčík and Kozumplík, 1984). Hormon inhibin, vytvářený v podpůrných buňkách semenotvorných kanálků varlete, je glykoprotein a zpětně působí na hypofýzu a brzdí tvorbu FSH (Jelínek and Koudela, 2003).



Obr. 5. – Schéma řízení pohlavní činnosti samců (Zpracováno dle: Hafez and Hafez, 2000; Feldman and Nelson, 2004; Jelínek et al., 2003).

Jakékoliv hormonální onemocnění může ovlivnit osu hypotalamus-hypofýza, a tudíž i spermatogenezi a plodnost. Problém může být přechodný, ale někdy o to závažnější. Kvalita

spermatu často poklesne v období několika týdnů až několika měsíců. Pokud nejsou učiněna žádná opatření, může pokles spermatu pokračovat, dokud nebude pes úplně azoospermický. Tato neplodnost často bývá nevratný stav. Na poruchy se sekrecí hormonů se mohou podílet nádory na hypotalamu nebo na hypofýze (Fontbonne, 2011).

Snížení cirkulujícího testosteronu může být následek destrukce Leydigových buněk uvnitř varlete nebo suprese osy hypofýza-Leydigovy buňky. Ztráta funkce Leydigových buněk má dále za následek zvýšení koncentrace LH v plazmě, ztrátu libida a variabilní stupeň zhoršení spermatogeneze. Narušená spermatogeneze se obvykle vyskytuje ve spojení s potlačením nebo ztrátou Leydigových buněk a je často způsobena hormonálními abnormalitami, infekcí, zánětem nebo degenerativní neoplazií varlat. Ačkoliv testosteron se podává pro zlepšení libida, je poměrně neúčinný při podpoře spermatogeneze a může ve skutečnosti mít významně škodlivý vliv na kvalitu spermatu, protože pravděpodobně sekundárně potlačuje vliv na sekreci GnRH a FSH. Léčba pro zlepšení libida musí být prováděna opatrně, protože účinky léčiv mohou poškozovat spermatogenezi (Feldman and Nelson, 2004).

3.4. Výživa a kvalita ejakulátu (nutriční faktory)

Reprodukce je energeticky nákladná. Reprodukční schopnost jedince je odrazem homeostatické rovnováhy mezi příjmem a výdejem energie. Energie a reprodukce jsou nevyhnutelně spojeny a zvíře má vyvinuté komplexní fyziologické mechanismy, které koordinují reprodukci v závislosti na metabolickém stavu. Tyto mechanismy jsou výrazně integrované. Sdílejí konstelaci metabolických, endokrinních a nervových komponentů. Ze všech různých faktorů prostředí, které formují reprodukční potenciál, dostupnost potravy má snad největší omezující vliv, protože jídlo je nejvíce nutná potřeba pro život a tím pádem i pro rozmnožování (Neill et al., 2006).

I v dnešní době je věnována malá pozornost správné výživě pro psy, kteří jsou v reprodukčním věku. Nedostatek správných živin ve výživě, může mít významný dopad na kvalitu ejakulátu (Domoslawska et al., 2015). Správná výživa je nezbytná mj. pro normální funkci varlat (Hotchkiss, 1951).

Mastné kyseliny jsou základní jednotkou u většiny lipidů a většinu z nich syntetizují savci z přijatých tuků ve své stravě. Nicméně, některé nenasycené mastné kyseliny nejsou syntetizovány v organismu a musí být získány z potravy. Omega faktory jsou mastné kyseliny

a v současné době jsou považovány za základní jednotky v četných zásadních ochranných funkcích v organismu. Metabolismus mastných kyselin vytváří kyselinu arachidonovou, jejíž degradace aktivuje zánětlivé mediátory, odpovědné za léze na buněčných membránách. Doplnky omega-3 mastných kyselin indukují pokles enzymatického účinku kyseliny arachidonové (Rocha et al., 2009). Luteinizační hormon indukuje rychle uvolňování kyseliny arachidonové z Leydigových buněk a metabolity této kyseliny jsou přímo spojené se spermatogenezí a také s produkcí testosteronu, vyvolané zvýšenou plazmatickou koncentrací GnRH (Dix et al., 1984). Proto doplnění stravy o omega mastné kyseliny mohou interferovat s výrobou hormonů a v důsledku toho stimulovat tvorbu spermií v testikulární tkáni. Doplněk mastných kyselin do krmiva pro psy může stimulovat činnost lipoxygenázy. Tento enzym nepřispívá k produkci zánětlivých mediátorů, což snižuje poškození buněk. Díky omega mastným kyselinám se zvyšuje produkce hormonů, které podporují funkci buněk varlat a zvyšují kvalitu spermatu, zvyšuje se také koncentrace spermií a snižuje se procento morfologicky abnormálních spermií (Rocha et al., 2009). Dokosahexaenová kyselina (DHA) – aktivní forma omega 3 – přispívá k fluiditě membrány a pružnosti bičíku spermie (Conquer et al., 2000).

Tvorba volných radikálů po peroxidaci lipidů membrán spermatických buněk způsobuje vážná poškození, která snižují kvalitu a životaschopnost spermií. Oxidační aktivita těchto metabolitů narušuje fluiditu membrán a pohyblivost spermie a tím snižuje schopnost oplodnění (Rocha et al., 2009; Hatamoto et al., 2006; Domoslawska et al., 2015). Vitamín E se používá jako hlavní antioxidant, protože má schopnost procházet membránou spermie a přerušit řetězovou reakci, která vede k tvorbě volných radikálů (Suleiman et al., 1996). Suplementací vitamínu E se zvyšuje pohyblivost spermií, vitalita a koncentrace, snižuje se procento abnormalit hlavičky a akrozomu spermií (Hatamoto et al., 2006; Domoslawska et al., 2015). Ukázalo se, že doplnění esenciálních mastných kyselin spolu s vitamínem E výrazně zlepšila kvalitu psího ejakulátu (Rocha et al., 2009; Domoslawska et al., 2015). Účinky vitamínu E na parametry semene jsou kontroverzní. Dávka 20 krát vyšší než je denní potřeba působí na spermie škodlivě (Danikowski et al., 2002; Hatamoto et al., 2006).

Savcí organismus potřebuje nepřetržitou dodávku některých stopových prvků, mj. selenu. Kromě dalších životně důležitých funkcí se selen podílí na mužské reprodukci jako je například spermatogeneze (Ahsan et al., 2014). Selen se vyskytuje v savčím organismu ve formě selenoproteinů, který obsahuje selen ve formě selenocysteinu. Selenoprotein je nutný pro zásobování varlat selenem. Antioxidační enzym – glutathion peroxidáza (GPx)- je hlavní selenoprotein ve varlatech. Existuje souvislost mezi selenem, kvalitou spermií a plodností.

GPx je přítomna v psích spermiích a semenné plazmě a hraje hlavní roli v rozkladu peroxidu vodíku (Domaslowska et al., 2015). Nedostatek či přebytek selenu může zhoršit tvorbu spermií a mít za následek špatnou kvalitu spermatu a neplodnost (Ahsan et al., 2014). Vysoké dávky selenu ve stravě způsobují sníženou pohyblivost spermií u psů (Domaslowska et al., 2015).

Další mikroprvek, zinek, je nezbytný pro růst, sexuální dospívání a reprodukci. V samčím reprodukčním systému se nachází poměrně vysoká koncentrace zinku (Madding et al., 1986). Koncentrace zinku vysoce koreluje s počtem spermií a kvalitou spermatu (Madding et al., 1986, Liu et al., 2009). Významná korelace je mezi koncentrací zinku v krevní plazmě a koncentrací spermií, pohyblivostí a morfologií. Souvislost existuje i mezi počtem spermií a koncentrací zinku v semenné plazmě (Wong et al., 2001). Zinek obsažený v krvi je důležitý pro správnou spermatogenezi (Liu, 2009; Wong et al., 2001). Zinek má také zásadní roli při antimikrobiální aktivitě semenné plazmy, kondenzaci jaderného chromatinu ve spermiích a při akrozomální reakci (Wong et al., 2001). Nedostatek zinku vede ke gonadální dysfunkci se sníženou testikulární hmotností a zmenšením semenotvorných kanálků. Nedostatek zinku může také narušit činnost enzymů v Leydigových buňkách, což má za následek úbytek testosteronu a následnou inhibici spermatogeneze (Liu, 2009; Wong et al., 2001). Nicméně vysoká hladina zinku může být spojena i s asthenozoospermií. Nadměrná vazba zinku na bičík spermie negativně ovlivňuje motilitu a rychlost. U těžkých teratozoospermických samců se objevují spermie s velkými strukturálními nedostatky hlavičky, jako je například malý nebo abnormální akrozom, nebo abnormality membrány (Liu, 2009).

Železo a měď jsou esenciální stopové živiny hrající důležitou roli v celkovém zdraví a plodnosti. Přebytek nebo nedostatek jednoho z prvků může vést k vadné spermatogenezi, snížení libida a k oxidačnímu poškození testikulární tkáně a spermií, což nakonec vede ke snížené plodnosti. Přímý nebo nepřímý účinek těchto živin na strukturu a funkci pohlavních žláz a gamet ještě není zcela znám. Nicméně oba prvky jsou vysoce toxické, když se nahromadí ve větším množství (Tvrda et al., 2015).

3.5. Vliv hygienických faktorů prostředí na kvalitu ejakulátu

Fotoperioda a teplota životního prostředí jsou dva důležité faktory, které mohou ovlivnit reprodukční cyklus u psa (Martins et al., 2006). Některé druhy rodu *Canis* v tropech a

rovníkové oblasti, např. etiopští vlci, afričtí divocí psi a mexičtí vlci mohou mít sezónní reprodukci, způsobenou různými potravními a klimatickými faktory, jako je např. dostupnost potravy, množství srážek nebo teplota. Tudíž oblast životního prostředí ovlivňuje, zda samec reprodukuje sezonně nebo kontinuálně (Ortega-Pacheco et al., 2006). Během reprodukční sezóny mohou u samců psovitých nastat změny v produkci testosteronu, velikosti varlat a spermatogeneze (Albizio, 2013). Pozoruhodnou výjimkou je pes domácí, který většinou zůstává reprodukčně aktivní po celý rok a může se pářit, kdykoli je přítomna samice v estru. Nicméně když domestikovaný domácí pes zdivočí, jeho reprodukční chování se může navrátit do stavu divokých psovitých šelem (Ortega-Pacheco et al., 2006).

I přes celoroční spermatogenezi u psů byly zjištěny sezónní výkyvy v objemu ejakulátu, motilitě spermií, koncentraci a celkový počet spermií (Ortega-Pacheco et al., 2006). U psa domácího některé studie vykazují vyšší procento abnormálních spermií v létě, zatímco vyšší koncentrace a produkce spermií byla pozorována na jaře a na začátku léta (Taha et al., 1981). V důsledku malého rozdílu mezi jednotlivými výsledky je pravděpodobné, že i přes změny vyvolané environmentálními podmínkami vykazují psi kvalitní ejakulát (Albrizio et al., 2013). Parametry semene psů z tropických oblastí jsou srovnatelné s těmi, kteří žijí v mírném klimatu (Wong and Dhaliwal, 1985). Fyziologickým stimulem může být samice na zvýšení produkce spermií nebo podporu obnovení v estru, která se vyskytuje poblíž samce (Albrizio et al., 2013).

Vnější faktory, jako je typ bydlení, využití psa, místo a frekvence odběru (Vágenknechtová et al., 2014), hmotnost psa a věk psa, také způsobují změnu kvality ejakulátu (Rijsselaere et al., 2007; Filipčík et al., 2014; Vágenknechtová et al., 2014). Největší objem spermatu se vyskytoval u psů chovaných v domácnostech, naopak psi žijící volně na pozemku měli nejnižší objem ejakulátu. Vysoce průkazný byl rozdíl v aktivitě spermií mezi skupinou psů žijících na volně na zahradě a psů žijících v kotcích nebo domácnostech. U psů v kotcích a domácnostech byla aktivita spermií srovnatelná a mnohem vyšší než u psů s volným výběhem. Co se týče koncentrace spermií v ejakulátu, nejvyšší měli psi s volným výběhem, poté psi žijící pouze v kotcích a nejnižší koncentraci měli psi chovaní v domácnostech. Vzhledem k využití psů, největší objem ejakulátu byl zjištěn u psů sportovních, poté následovali psi policejní a nakonec nejmenší objem měli rodinní psi. Naproti tomu policejní psi měli oproti psům sportovním a rodinným nižší aktivitu spermií. Koncentrace spermií v ejakulátu byla nejvyšší u psů pracujících u policie a psi sportovní a žijící v rodinách vykazovali hodnoty vzájemně srovnatelné. Místo odběru má také vliv na koncentraci spermií v ejakulátu. Odběry ejakulátu prováděné doma vykazovaly nižší průměrnou koncentraci než

odběry v laboratoři. Počet odběrů je též jeden z faktorů, působících na kvalitu ejakulátu. Nejvyšší objem ejakulátu vykazuje první odběr a s přibývajícím počtem odběrů se objem snižuje. Také aktivita spermií se snižuje (Vágenknechtová et al., 2014). Nezanedbatelnou roli také hraje živá hmotnost psa. Hmotnost psa je významným faktorem, který ovlivňuje celkový počet spermií. Počet spermií závisí funkční testikulární tkání, ta souvisí s hmotností varlat a zároveň s celkovou živou hmotností psa (Rijsselaere et al, 2007; Vágenknechtová et al., 2014). Psi malých plemen produkují tedy méně spermií než psi velkých plemen (Rijsselaere et al, 2007). Také věk může hrát důležitou roli v kvalitě semene. Schopnost reprodukce psa je v podstatě ovlivněna jeho stářím (Filipčík et al., 2014; Vágenknechtová et al., 2014). Je potvrzena korelace mezi věkem psa a objemem ejakulátu. Největší objem a koncentraci spermií je u psů ve věku 2-3 let. U psů ve věku mezi 3 až 5 lety jsou spermie nejvíce pohyblivé a morfologicky normální (Filipčík et al., 2014). Snížená aktivita spermií a snížený počet morfologicky normálních spermií u psů nastává už u psů od šesti let (Vágenknechtová et al., 2014). S přibývajícím věkem psa klesá objem ejakulátu a zvyšuje se výskyt patologicky změněných spermií. Nejvyšší počet patologických změn ve struktuře spermie vzniká při tvorbě bičíku a torze bičíku (Filipčík et al., 2014). Stáří psa neovlivňuje jen zárodečné buňky, ale také množství Leydigových buněk (Lowseth et al., 1990). Věk a hmotnost těla významně korelují u procenta normálních spermií (Rijsselaere et al, 2007).

Za abnormalitami reprodukčního systému mohou být také toxické látky. Existuje významný souvislost mezi množstvím molybdenu (Mo) v krvi a klesající koncentrací spermií a jejich morfologií. Molybden je všudypřítomný stopový prvek nalézající se v potravinách a pitné vodě. Byla prokázána snížená fertilita u samců, kteří jsou vystaveni vyšším dávkám molybdenu. Mo může způsobit poškození testikulární tkáně a to jak morfologicky, tak funkčně. Pokles koncentrace, pohyblivosti a narušení normální morfologie spermií jsou závislé na množství molybdenu. Mo také vykazuje interakce s dalšími minerálními látkami, například chelatační efekt vůči vápníku (Meeker et al., 2008).

Olovo a kadmium jsou vysoce toxické kovy nejen pro psy, ale všeobecně pro savce. Oba prvky jsou též všudypřítomné v životním prostředí a hromadí se v těle po celý život, včetně prenatálního života (především olovo). Největšími zdroji jsou potraviny (zejména mořské plody znečištěné kovy), voda (olovo se uvolňuje z trubek po kontaktu měkké a kyselé vody), vzduch (zvláště olovo v hustých dopravních oblastech). Pb a Cd mohou nepříznivě ovlivnit samčí pohlavní systém (Telišman et al., 2000). Vysoká expozice Pb, je spojena se zvýšeným výskytem nezralých spermií a procentem patologických spermií a se sníženou pohyblivostí (Telišman et al., 2000; Meeker et al., 2008).

Endokrinní disruptory (EDS) jsou chemické látky, které mají schopnost narušovat hormonální biosyntézu, metabolismus nebo působení, které přispívají k rostoucímu výskytu samčí subfertility nebo infertility. Endokrinní disruptory jsou považovány za chemikálie, jejichž testikulární toxicita je pravděpodobně založena na interferenci se steroidními hormony (Dankers, 2013; Bellingham et al., 2012). Vzhledem ke složitosti endokrinního systému je obtížné mechanismus účinku EDS odhalit. Doposud je známo, že působí jako nedokonalé ligandy (buď jako agonisti, nebo antagonisti) na jaderné a membránové receptory (steroidních i nesteroidních hormonů), čímž se narušují hormony regulované buněčné signální dráhy a genové exprese (Marque-Pinto, 2013). V průběhu posledních 40 let se zvýšil výskyt testikulárních nádorů u psů. Faktory životního prostředí, resp. endokrinní disruptory, jsou pravděpodobnou příčinou zvýšení výskytu rakoviny varlat u psů (Grieco et al., 2012a; Marque-Pinto, 2013), snížení počtu spermií, změn specifického pohlavního chování nebo rakoviny prostaty (Yang et al., 2011). Endokrinní disruptory narušují zárodečné buňky ve varlatech a buňky podporující spermatogenezi a tím pádem je narušena tvorba spermií (Marque-Pinto, 2013). Nicméně, vše nasvědčuje tomu, že EDS mohou mít vliv na rozvoj a fungování reprodukčního systému u obou pohlaví. Vystavení endokrinním disruptorům může také působit na Leydigovy buňky a narušit steroidogenezi, což má za následek relativní nedostatek testosteronu. V poslední době jsou EDS spojovány i s vyšším rizikem nárůstu kryptorchismu či syndromem testikulární dysgeneze, což má také za následek výrazně sníženou kvalitu spermií (Marque-Pinto, 2013; Bellingham et al., 2012). Přesto, že expozice těmito chemikáliemi může vycházet z různých zdrojů (např. prach, materiály používané v domácnosti nebo pracovní prostředí), hlavním zdrojem EDS je potrava, voda (Bellingham et al., 2012; Marque-Pinto, 2013), případně hračky vyrobené z plastu (Wooten and Smith, 2013). Skupina známých endokrinních disruptorů je velmi různorodá. Zahrnuje všude přítomné syntetické látky používané jako průmyslová maziva a rozpouštědla, jejich vedlejší produkty, jako například polychlorované bifenoly, plasty a z nich uvolňovaný bisfenol A nebo ftaláty používané jako změkčovadla. Přírodní látky jako jsou fytoestrogeny a těžké kovy také mohou mít endokrinní rušivé účinky (Marque-Pinto, 2013).

Endokrinní disruptor bisfenol A (BPA) působí estrogeně. Mezi identifikované estrogení účinky BPA patří například zvýšení sekrece prolaktinu z hypofýzy a zvýšení růstu a diferenciaci prsní žlázy (Kang and Kondo, 2002). Sérová koncentrace BPA je dáována do souvislosti se sníženými kvalitativními parametry semene a zvýšenou urinací. Je prokázáno, že prenatální expozice bisfenolu A narušuje bariéru mezi krví matky a plodu, což může vést k neplodnosti v dospělosti v důsledku imunologické aktivity s následným úbytkem

zárodečných buněk (Marque-Pinto, 2013). Bisfenol A se vyrábí z acetonu a fenolu a používá se k výrobě epoxidových pryskyřic a polykarbonátových plastů. Epoxidové pryskyřice se používají k povlakování kovových povrchů plechovek, které jsou ve styku s krmivem (Kang and Kondo, 2002; Schechter et al., 2010). BPA se do krmiva může dostat vylouhováním z plechovky, když je plechovka vystavena vysokým teplotám pod tlakem při sterilizaci, pozdějšímu zahřívání (Kang and Kondo, 2002), ultrafialovému nebo mikrovlnnému záření (Yang et al., 2011). Díky trendu posledních několika let se kompletní krmivo pro psy rozšířilo ve všech formách, a to i ve formě balení do plechovky s tím pádem i vyšší expozicí psů bisfenolu A (Kang and Kondo, 2002; Bellingham et al., 2012). Dalším zdrojem bisfenolu A mohou být produkty určené pro žvýkání. Mezi tyto produkty patří hračky a výcvikové pomůcky, které jsou vyrobeny nejčastěji z různých druhů plastů. Kombinace žvýkání předmětu a jeho stárnutí má za následek vyšší koncentraci vylouhovaného BPA. Kromě toho teplota, sliny, množství slin, enzymy a jiné proteiny mohou také ovlivnit vyplavování chemikálie do organismu. Bohužel na rozdíl od dětských hraček, hračky pro psy nepodléhají regulaci nebezpečných látek (Wooten and Smith, 2013).

Ftaláty jsou přidávány do plastových materiálů kvůli požadovanému stupni pružnosti. Ftaláty jsou rovněž citlivé na vyplavování do okolí a organismu díky vlastnostem životního prostředí, včetně teploty, kinetické energie kapaliny v kontaktu s plastovým předmětem, teploty a objemu slin, enzymů a proteinů působících při žvýkání plastového předmětu psem. Ftaláty mohou rovněž ovlivnit endokrinní funkce jako bisfenol A. Tato chemická látka má výrazné účinky na reprodukci, včetně zvýšené incidence kryptorchismu, hypospadie a dalších vývojových abnormalit spojených s testikulární anatomií (např. u Sertoliho buněk), přičemž nejvíce jsou ohroženi samci v prenatálním období. Dohromady je tato skupina anomálií označována jako „ftalát syndrom“ nebo „syndrom testikulární dysgeneze“ (Wooten and Smith, 2013).

Snížit expozici endokrinními disruptory můžeme následujícími kroky. Prvním krokem je vyhnout se používání plastových obalů v mikrovlnné troubě a jejich opakovanému použití. Dále je třeba se snažit používat sklo místo plastů, zeleninu bez pesticidů a vyhýbat se nadměrnému využití kosmetických přípravků (Marque-Pinto, 2013).

3.6. Vrozené poruchy plodnosti spojené se sníženou kvalitou spermatu

Poruchy plodnosti jsou dle příčiny děleny do dvou hlavních skupin - , vrozená a získaná neplodnost / též „příčiny neplodnosti jsou děleny do dvou hlavních skupin – vrozené a získané“. Vrozená neplodnost je způsobena většinou genetickými (chromozomálními) abnormalitami a je založena již při narození (Fontbonne, 2011). Častějšímu výskytu dědičných onemocnění napomáhá příbuzenská plemenitba a nedůsledná registrace vad (Gamčík and Kozumplík, 1984). Získaná neplodnost se vyvíjí během života psa. Neplodnost psa nemusí způsobovat pouze vady v ejakulátu, ale také poruchy pohlavních orgánů (Fontbonne, 2011). Pes, který nikdy nezplodil vrh potomků a to i přes četné pokusy o něj, by měl být také považován za dědičně neplodného, dokud se neprokáže jiná příčina. Diagnostický postup vrozené neplodnosti je zaměřen více na anatomické vady - např. bilaterální kryptorchismus, testikulární neoplazie, segmentární aplazie Wolfových vývodů, funkční vady spermií - např. primární ciliární dyskineze a na poruchy sexuálního vývoje - např. XXY syndrom, též Klinefelterův syndrom (Feldman and Nelson, 2004).

Normální počet chromozomů u psů samců je 78, s pohlavními chromozomy XY a u samic 78, s pohlavními chromozomy XX (Meyers-Wallen, 2011). Těchto 78 chromozomů obsahuje 38 párů nepohlavních chromozomů a dva pohlavní chromozomy. Normální pohlavní vývoj probíhá ve třech krocích. Krok jedna je vznik chromozomálního pohlaví - XY proti XX. Vývoj gonadálního pohlavní následuje jako krok dva - varlata versus vaječníky. Za předpokladu, že první dvě fáze proběhly normálním postupem, posledním krokem je vývoj pohlavního fenotypu - jedinec vypadá buď jako samec nebo jako samice (Feldman and Nelson, 2004). Abnormální pohlavní chromozomy jsou výsledkem vady v počtu nebo struktuře pohlavních chromozomů. Tyto poruchy vznikají náhodnými ději během tvorby gamet nebo časného embryonálního vývoje. Mohou tedy být pozorovány u psů jednoho plemene a obecně nemají familiární vzor. Většina samců s abnormalitami na pohlavních chromozomech má málo výrazné klinické příznaky a onemocnění se diagnostikuje až ve chvíli, kdy pes není schopen zplodit potomky a jedinci se vyšetří karyotyp (Lyle, 2007).

Kryptorchismus je definován jako maldescensus testis, tj. stav, kdy je narušen fyziologický proces sestupu varlat do šourku. Sestup do šourku nemusí dokončit buď jedno varle nebo obě varlata (Arthur et al., 2001). V případě, že není sestouplé v šourku ani jedno varle, hovoříme o bilaterálním kryptorchismu. Jednostranný kryptorchismus znamená, že sestoupilo do šourku pouze jedno varle. Jednostranný kryptorchismus se vyskytuje častěji než bilaterální (Memon,

2007; Marques-Pinto and Carvalho, 2013). Podle lokalizace nesestouplého varlete rozeznáváme kryptorchismus inguinální a abdominální. U inguinálního kryptorchismu se varle nachází v oblasti tříselného kanálu a u abdominálního v oblasti břicha. Varlata se vyvíjejí kaudálně za ledvinami a v průběhu prenatalního období sestupují dutinou břišní ventrálním směrem k tříselnému kanálu, případně tříselným kanálem až do šourku (Svoboda, 2000). Nesestouplé varle může být umístěno kdekoliv podél dráhy sestupu varlete (Meyers-Wallen, 2011). Poněvadž u psů je sestup varlat obvykle dokončen až 10. – 14. den po porodu, je výskyt kryptorchismu poměrně častý (0,8 – 15 %). Termín dokončení sestupu varlat u psů je však i za normálních podmínek značně variabilní. Za kryptorchismus se u psů považuje stav, kdy sestup jednoho nebo obou varlat není dokončen do 2 měsíců po porodu. Sestup varlat je limitován vývojem mezenchymálního kormidla, které přes tříselný kanál spojuje kaudální okraj varlete s genitálním hrbolkem. Jeho abnormální vývoj (zkrácení, uskřínutí) zabraňuje sestupu varlete. U některých štěňat mohou být v průběhu několika měsíců po porodu varlata přechodně zatahována aktivitou svalů do tříselného kanálu (Svoboda, 2000). Klinicky lze diagnostikovat psí kryptorchismus až ve chvíli, kdy varlata nesestoupila do šourku do 6-8 týdnu věku, což je období kdy mláďata jsou vyšetřována při prvním očkování (Meyers-Wallen, 2011). Kryptorchismus je dědičné onemocnění, řízené jedním nebo více autozomálními recesivními geny vázanými na samčí pohlaví (Memon, 2007). Fenotypicky se vada projevuje u homozygotů. Stav je výrazem nedokonalé činnosti neuroendokrinního systému a může být jedním z projevů intersexu. (Svoboda, 2000). Anomálie má vyšší predispozice u čistokrevných plemen než u psů kříženců a u menších psů než u větších. Nejvyšší prevalenci ke kryptorchismu mají linie kokršpanělů a malých kníračů (Memon, 2007). Bylo prokázáno, že tříselný kryptorchismus je nejčastější (Yates et al., 2003). V nesestouplých varlatech je spermatogeneze výrazně snížena nebo chybí v důsledku vysoké teploty působící na varle. Vysoká teplota způsobuje destrukci germinativního epitelu v semenotvorných kanálcích (Svoboda, 2000). Psi, kteří jsou unilaterální kryptorchidi, jsou obvykle plodní i přes potlačenou spermatogenezi v nesestouplém varleti. Hustota spermií v ejakulátu u takto postižených psů je často nižší, než bývá normální pro dané plemeno. Bilaterální kryptorchidi mají ejakulát buď azoospermický nebo velmi silně oligospermický (Arthur et al., 2001). Kryptorchismus nemá vliv na sekreci testosteronu díky zachování určité aktivity Leydigových buněk, proto ani libido není ovlivněno a pes může dosáhnout erekce. Zadržovaná varlata jsou výrazně menší. Průměr semenotvorných kanálků je menší o 60 % ve srovnání s kanálky ve varletech, které jsou fyziologicky v šourku. Komplikací kryptorchismu je častá náchylnost k neoplazii, 9 -14 krát vyšší než u varlat v šourku (Memon, 2007), nádory

Sertoliho buněk jsou nejčastějším nádorem a to až 26násobně než u zdravých psů (Camara et al., 2014). Navíc u nesestouplých varlat zadržovaných v břišní dutině se může objevit torze semenného provazce, což vede k perakutním bolestem břicha a dalším komplikacím (Memon, 2007). Kvůli těmto komplikacím se doporučuje nesestouplá varlata chirurgicky odstranit (Arthur et al., 2001).

Testikulární hypoplazie je charakterizována neúplným vývojem semenotvorného epitelu v důsledku nedostatečného počtu zárodečných buněk ve varleti (Arthur et al., 2001). Tento stav vyvolává subfertilitu až sterilitu (Svoboda, 2000). Lehčí případy mohou vykazovat mírnou oligospermii nebo abnormální morfologii spermií, ale v závažnějších případech se může objevit aspermie (Arthur et al., 2001). Vzniká v časném prenatalním období jedince, kdy dochází k přeměně indiferentních gonád ve varlata (Svoboda, 2000). Nedostatek zárodečných buněk může nastat v období, kdy dochází k přeměně nediferencovaných gonád ve varlata. Nedostatek počtu zárodečných buněk je výsledkem snížené migrace buněk ze žlutkového váčku do indiferentních gonád, případně neschopnosti zmnožit zárodečné buňky v rozvíjejících se pohlavních žlázách nebo jejich destrukce v primitivních gonádách (Arthur et al., 2001). Jako příčina hypoplazie varlat se uvádí recesivní autosomální geny s neúplnou penetrací nebo jen monofaktoriální podmíněnost vzniku. Karyotyp postižených jedinců je samčí. Varlata u hypoplazie jsou menší, neodpovídají věku a danému plemeni, na úkor germinativní tkáně (Kliment et al., 1983). Testikulární hypoplazie může postihovat jedno nebo obě varlata, a i když existují různé stupně hypoplazie, rozděluje se rámcově na dvě formy. První forma je lehká /parciální) a druhá je těžká (totální). Při parciální formě je postižena jen část semenotvorného epitelu varlat, zatímco u těžké formy je poškození zjišťované ve všech úsecích germinativní tkáně varlat. Při jednostranné totální hypoplazii je postižené varle výrazně menší. Jeho konzistence může být normální nebo tužší, ale i vláčnější a nepružná. Hypoplazie postihuje převážně spermiogenetický epitel, takže Leydigovy buňky mohou produkovat androgeny a libido, kopulační orgány a sekundární pohlavní znaky mohou být zcela normální. Psi s jednostrannou parciální hypoplazií mohou být normálně plodní nebo s jen mírně sníženou plodností a jako nositelé této vady předávají pak tuto vlastnost na potomky, a to i samičího pohlaví. Spermioqram samců se odchyluje od normálu v závislosti na stupni hypoplazie (Gamčík and Kozumplík, 1984). Testikulární hypoplazie se neléčí a prognóza je příznivá jen v případě jednostranné hypoplazie. Byly pokusy o léčbu exogenními hormony, ale ta je zatím neúspěšná. Vzhledem k dědičnosti této poruchy je doporučena kastrace jedince a tím pádem i vyloučení z chovu (Arthur et al., 2001).

Segmentální aplazie Wolffových vývodů je nedovyvinutí části vývodných cest, nejčastěji se projevuje chybějící částí nadvarlete, ale postihuje i chámovod, ampulu chámovodu a semenné vajíčky (Arthur et al., 2001). Segmentární aplazie může být bilaterální, častěji unilaterální. V případě unilaterální formy je zachována plodnost psů a anomálie může ujít pozornosti (Svoboda, 2000). K oligospermii dochází v případě, že jedno nadvarle je aplastické. U obou aplastických varlat vzniká aspermie. Bilaterální aplazie je důsledek sterility psa. Jestliže aplazie zasahuje v distální části nadvarlete, místo je většinou zvětšené a napjaté (Arthur et al., 2001), sekret semenotvorných kanálek se neabsorbuje, nýbrž hromadí proximálně před hlavou nadvarlete a tlakem vyvolává degeneraci tkáně varlete, resp. semenotvorných kanálek (Svoboda, 2000) s následnou degenerativní atrofií varlat. Nahromaděný sekret uvnitř nadvarlete a možný unik spermií do okolních tkání predisponuje k sekundárním hnisavým infekcím (Arthur et al., 2001). Z důvodů dědičné podmíněnosti anomálie se chirurgické zprůchodnění nedoporučuje (Svoboda, 2000).

Primární ciliární dyskineze (Sha et al., 2014), dříve nazýván syndrom nepohyblivých cílů (Morrison et al., 1987), je autosomálně recesivně dědičné onemocnění (Sha et al., 2014; Feldman and Nelson, 2004; Svoboda, 2000). Postižení psi jsou charakterističtí sníženou fertilitou, opakujícími se infekcemi horních a dolních cest dýchacích, situs inversus (Merveille, et al., 2011) a hydrocefalem. Syndrom PCD způsobuje absenci dyneinu ramének mikrotubulů v bičíku spermií (Fontbonne, 2011). U neplodných samců s primární ciliární dyskinezi jsou spermie obvykle nepohyblivé v různé míře, nebo jsou dokonce zcela statické a vykazují morfologické vady. Postižení psi mají obecně nepohyblivé ejakulované sperma a nemají téměř žádnou šanci na oplodnění (Sha et al., 2014). I přesto, že u psů je PCR relativně vzácné onemocnění, bylo objeveno u více jak 19 plemen. Cílem genetické analýzy primární ciliární dyskineze je zjistit genetickou mutaci a identifikovat zdravé psy, přenašeče a postižené psy. Bohužel identifikovaná oblast postiženého chromozomu stále obsahuje velké množství, asi 150 genů (Merveille et al., 2011).

Klinefelterův syndrom je genetická porucha samčí sexuální diferenciací charakteristická karyotypem XXY nebo podobnou odchylkou karyotypu včetně mozaicismu (Berg et al., 2008). Během procesu meiózy jsou konečným výsledkem spermie nebo vajíčka. Při meióze může dojít k abnormalitám. Mezi abnormality ve vývoji spermie nebo vajíčka patří stav nazývaný nondisjunkce. Dojde-li k nondisjunkci ve vývoji vajíčka, jedno vajíčko obsahuje dva X chromozomy a druhé vajíčko nemá žádné sexchromozomy. Pokud tedy spermie s Y chromozomem oplodní vajíčko se dvěma X chromozomy vznikne jedinec XXY (Feldman and Nelson, 2004). Klinefelterův syndrom byl popsán u různých druhů zvířat, včetně psa, kočky,

prasete a koně (Reimann-Berg et al., 2008; Berg et al., 2008). Zatímco mezi kocoury byli nejvíce postiženi kocouři v kaliko zbarvení, u psů není barva srsti spojena s X chromozomem (Meyers-Wallen, 2011). Postižení psi mají karyotyp 79, XXY, hypoplastická varlata, nadvarlata, chámovod. Vnější genitálie jsou samčí, v rozmezí od normálních až hypoplastické (Lyle, 2007). Postižení psi trpí hypotestosteronií (Reimann-Berg et al., 2008; Berg et al., 2008), i přesto ale mají samčí fenotyp - díky přítomnosti varlat, která mohou produkovat hormon MIS a testosteron. Přítomnost dvou chromozomů X narušuje normální spermatogenezi, což vede ke sterilitě (Lyle, 2007). Spermatogonie psů s Klinefelterovým syndromem se nevyvinou, takže semenotvorné kanálky prakticky postrádají spermatogenní buňky. Sperma těchto psů je aspermické. Libido je normální i přesto, že Leydigovy buňky jsou ovlivněny (Arthur et al., 2001). Byl popsán případ, kdy postižený pes Klinefelterovým syndromem onemocněl ve velmi nízkém věku testikulární neoplazií (Meyers-Wallen, 2011). Tento poznatek umožňuje závěr, že XXY syndrom může podporovat testikulární nádorová onemocnění ve velmi mladém věku psa (Reimann-Berg et al., 2008; Berg et al., 2008).

Hypogonadotropní hypogonadismus je spolu s anosmií součástí Kallmanaova syndromu. Tento syndrom je klinicky a geneticky heterogenní onemocnění. Ačkoliv Kallmanův syndrom je identifikován jako dědičné onemocnění, jeho genetika je stále úplně nevyjasněná. Kallmanův syndrom se většinou diagnostikuje v době puberty, protože pes vykazuje nedostatek sexuálního vývoje, který lze zjistit na základě nálezů menších varlat než je typické a chybějící virilizace. Podezření na Kallmanův syndrom může vzniknout již v raných fázích života psa, kdy je přítomen kryptorchismus a mikropenis v kombinaci s nízkou koncentrací luteinizačního a folikuly stimulujícího hormonu (Dodé and Hardelin, 2009). Samci s hypogonadotropním hypogonadismem mají závažný nedostatek uvolňování GnRH - gonadotropiny spouštějícího hormonu (Nachtigall et al., 1997). GnRH je hlavní hormon v reprodukčním endokrinním systému (Chan et al., 2009). Celkově samci s jakoukoli formou nedostatku GnRH nemají pubertu. U hypogonadotropního hypogonadismu existují rozdíly v závažnosti onemocnění a v době vzniku deficitu GnRH. (Nachtigall et al., 1997). Podle doby vzniku deficitu může jít o onemocnění vrozené nebo získané (Feldman and Nelson, 2004). Pokud onemocnění zahrnuje kryptorchismus a mikrofalus, předpokládá se, že GnRH nebyl přítomen v průběhu poloviny březosti (Nachtigall et al., 1997). Mezi získané příčiny patří defektní biosyntéza nebo sekrece GnRH, infiltrativní a prostor zabírací léze, granulomatózní onemocnění a lymfatická hypophysitis. Onemocnění hypofýzy může způsobovat zhoršení sekrece FSH a LH, snížení libida, poruchy spermatogeneze a testikulární hypoplazii. Neplodnost působenou ztrátou gonadotropních buněk hypofýzy můžeme

předpokládat u psů se sníženou koncentrací cirkulujících FSH, LH a testosteronu, s testikulární hypoplazií, nedostatečným množstvím Leydigových buněk a neaktivními semenotvornými kanálky (Feldman and Nelson, 2004; Svoboda, 2000). Prognóza pro psa je závislá na základní příčině onemocnění. Léčba musí být navržena tak, aby stimulovala libido a spermatogenezi. Bohužel je velmi těžké napodobit normální sekreci gonadotropinu hypofýzou, a proto účinnost této léčby je diskutabilní (Feldman and Nelson, 2004).

3.7. Získané poruchy zdraví spojené se sníženou kvalitou spermatu

Získaná neplodnost patří mezi nejběžněji se vyskytující stavy infertility u psů. Ve většině případů, zvláště na začátku poškození pohlavního systému, nebývá libido změněné. Normální libido bývá u infertilních psů často zachováno. U psů, kteří trpí dysfunkcí varlat, nadvarlat nebo prostaty, avšak není u nich změněna funkce Leydigových buněk, nedochází k ovlivnění koncentrace plazmatického testosteronu. Libido je zpočátku normální, ale později se může snižovat. Ke snížení libida dochází vlivem redukce cirkulujícího testosteronu nebo méně často následkem získaných psychických zábran. K redukcí testosteronu může dojít v důsledku destrukce Leydigových buněk ve varleti nebo supresi osy hypofýza – Leydigovy buňky. Určitý vztah ke sníženému libidu je pozorován i při hypotyreóze, hyperadrenokorticismu, po parentálním použití progesteronu a v souvislosti s uvolňováním hormonů (estrogenů) z nádorů varlat. Většina příčin způsobujících získanou infertilitu s normálním libidem může přejít až v destrukci Leydigových buněk a ztrátu libida. Získávání ejakulátu u této skupiny samců je problematické, a pokud se odběr nepodaří, je třeba provést histologické vyšetření varlat. Současně se snížením počtu Leydigových buněk dochází ke zvýšení koncentrace LH. Mezi hlavní příčiny získané neplodnosti patří: testikulární degenerace, teplota, infekce, stres, nádorová onemocnění a další (Svoboda, 2000).

Testikulární degenerace označuje abnormální zmenšení původně normálně vyvinutých varlat psa. Jedná se o degeneraci buněk v semenotvorných kanálcích nebo intersticiální tkáni. Mohou být poškozeny spermatogonie, Sertoliho i Leydigovy buňky (Camara et al., 2014; Svoboda, 2000). K testikulární degeneraci dochází v reakci na zvýšenou intratestikulární teplotu, toxiny, stres, endokrinní poruchy a infekci (Arthur et al., 2001). Může dále vzniknout při spermatokéle a nádorech (Svoboda, 2000). Zvýšená teplota varlat také způsobuje degeneraci a může pocházet z mnoha příčin. Dlouhodobý pobyt na vysokých letních teplotách

může způsobit u mnohých psů relativní neplodnost (Arthur et al., 2001). Lokální zánět kůže na šourku nebo jiných vrstvách šourku může také zvýšit teplotu varlat a způsobit poškození spermatogeneze (Rhodes, 1976). Abnormality oběhu krve na varlatech, například se vyskytuje u varikokély, narušuje tepelný mechanismus odpovědný za udržování nižší teploty varlete než těla. Podle výše teploty se projevuje stupeň degenerace varlat (Ott et al., 1982). I omrzliny šourku mohou způsobit testikulární degeneraci (Arthur et al., 2001). Toxické příčiny degenerace varlat jsou také dosti časté (Humphrey and Ladds, 1975). Degenerace způsobená stresem dochází z velké části v důsledku inhibice sekrece LH způsobené kortikosteroidy, které jsou uvolňovány při stresu. Degenerace související se stresem byla popsána u psů, kteří byli dlouhodobě v nevyhovujícím životním prostředí a ubikaci. Hormonální degenerace je popsána u psů, u nichž je snížena sekrece gonadotropinů buď lézí na předním laloku hypofýzy nebo z důvodu přítomnosti estrogenního tumoru, jako je například tumor Sertoliho buněk nebo nadledvin (Arthur et al., 2001). Mírná až středně těžká degenerace varlat je klasifikována v případě, že je redukován průměr semenotvorných kanálků, snížení počtu zárodečných buněk a intersticiální buňky jsou zmnoženy. Příznaky se mohou projevovat buď samostatně, nebo v kombinaci. Těžká testikulární degenerace je charakteristická menším průměrem semenotvorných kanálků, zahuštěním bazální membrány, vakuolizací Sertoliho buněk, snížením počtu zárodečných buněk a fibrózou Leydigových buněk (Camara et al., 2014). Výsledky kvalitního histologického hodnocení obou varlat prokázaly progresivní tendenci degenerativních změn na varlatech a neúplnou spermatogenezi v semenných kanálcích, která je více výrazná se zvyšujícím se věkem (Lowseth et al., 1990). U diagnostikované těžké testikulární degenerace je možná azoospermie (Camara et al., 2014). Je možný stav, kdy varlata jsou postižena těžkou testikulární degenerací a tekutina chámovodu vykazuje azoospermii, zatímco semenotvorné kanálky varlat obsahují zárodečné buňky. Tento stav může být způsoben testikulární obstrukcí, která zhoršuje uvolňování spermií (Webstlander, 2001; Memon 2007). Souvislost mezi obstrukcí a testikulární degenerací u psů by mohl být důsledkem předchozí infekce nebo zánětu semenných vývodů (Romagnoli et al., 2009). Prvotními projevy změn v kvalitě spermií jsou u testikulární degenerace snížená pohyblivost a zvýšené procento abnormálních spermií, zejména spermií s proximální kapkou a oddělenou hlavičkou (Arthur et al., 2001; Camara et al., 2014). Počet spermií obvykle začne klesat, i když objem ejakulátu se většinou nezmění (Arthur et al., 2001). Procento abnormálních spermií se pohybuje nad hranicí 40,0 % (Dahlbom et al., 1997). Se snižujícím se počtem spermií se zvyšuje poměr abnormálních spermií s vyšší procentuální šancí na primární defekty. Mezi tyto defekty patří především abnormality hlavičky, oddělené hlavičky

a stočené bičíky. Mohou se vyskytovat v ejakulátu i spermie s bizardními abnormalitami, včetně malých abnormálních hlaviček, akrozomálních vad a přítomnost premeiotických buněk a hvězdicových forem (Arthur et al., 2001). Abnormální spermie s oddělenou hlavičkou je nejčastější abnormalitou spermií testikulární degenerace u psů, bez ohledu na věk psa, plemeno nebo původ (Camara et al., 2014). Počet spermií může klesat do té míry, že ejakulát se stane prakticky azoospermický. Během rekonvalescence se pohyblivost a morfologie spermií zlepši před zvýšením počtu spermií. V průběhu zotavovací fáze se ale často zvyšuje procento spermií s distální kapkou. Rekonvalescence může nastat téměř okamžitě po nejhorším stavu kvality spermatu, ale může být i dosti zdoluhavá. Rozsah a závažnost změn spermatu nemusí být v korelaci s dobou trvání nemoci nebo s pravděpodobností obnovy (Arthur et al., 2001).

Infekční onemocnění často vedou k orchitidě nebo epididymitidě, s následnou změnou kvality spermatu. Předpokládá se, že by to mohl být následek hematogenního šíření organismů na kontralaterální varle nebo vyvolání systémové imunitní reakce po vystavení testikulárních autoantigenů imunitnímu systému zvířete. Pro psy žijící v psí boudě je infekční onemocnění pravděpodobně hlavní příčinou neplodnosti (Fontbonne, 2011; Arthur et al., 2001). Zánět varlete (orchitis) úzce souvisí se zánětem nadvarlete (epidymitis), poněvadž pro bezprostřední kontakt zánět obvykle zasahuje jak varle, tak nadvarle. Orchitis se častěji vyskytuje jednostranně než oboustranně / unilaterálně než bilaterálně. Příčinou bývá infekce po poranění, ascendentně z infikované moči nebo sekretu prostaty, případně z lymfy nebo krve při bakteriémii (Arthur et al., 2001). Orchitis se vyskytuje v akutní a chronické formě. Chronická orchitida je často následkem akutního zánětu. Nejčastějším přímým zdrojem infekce pro vznik chronické orchitidy je infekční chronická prostatitida. Zvláštní příčinou chronické orchitidy je zhroucení bariéry mezi krví a varlaty po poranění či infekci s tvorbou protilátek proti různým vývojovým formám spermií (Svoboda, 2000). Při chronické fázi varle vykazuje atrofii, fibrózu a je nepohyblivé kvůli srůstům se šourkem. Abscesy vzniklé ve varleti mohou pronikat do kůže šourku (Arthur et al., 2001). Chronická orchitida může probíhat i bez klinických příznaků, kdy dochází k vnitřní destrukci tkáně varlete, hlavně semenotvorných kanálků, s nehnisavým zánětem a fibrózou. Postižený pes může vykazovat snížené pohlavní libido (Svoboda, 2000). Akutní zánět je charakterizován zvětšením varlat a nadvarlat, zvýšenou místní, ale i celkovou teplotou a značnou bolestivostí (Gamčík and Kozumplík, 1984; Arthur et al., 2001). V akutní fázi onemocnění je postižené varle výrazně větší a to dokonce dvakrát nebo třikrát než je jeho normální velikost (Arthur et al., 2001). Po odeznění akutních příznaků onemocnění dochází k těžkému poškození spermiogenního

epitelu (Gamčík and Kozumplík, 1984). Při akutní formě jsou na šourku a varleti výrazné příznaky zánětu - zduření, překrvení, lokální hypertermie, bolest (Svoboda, 2000). Lokalizovaný zánět obvykle způsobí, že v závislosti na teplotě podlehne degeneraci i nepostižené varle (Arthur et al., 2001). Lymfocytární zánět varlat je charakterizován zánětem lymfy ve varlatech. Imunitně zprostředkované napadení může být spuštěno po poškození krevních bariér varlat po úrazu, infekci, zánětu nebo se může objevit spontánně u psů s genetickou predispozicí. Vzhledem k progresivní povaze tohoto stavu je prognóza opětovné plodnosti nepravděpodobná. Ve snaze tlumit imunitní reakce se podávají postiženému imunopresivní dávky glukokortikoidů (např. prednisone, 2 až 4 mg/kg/den). Bohužel, dlouhodobé a nadměrné dávky glukokortikoidů, které jsou často nezbytné pro zvládnutí této poruchy, nepříznivě ovlivňují tvorbu spermií a vedou k infertilitě. Proto lékař musí regulovat imunitní reakci pomocí co možná nejmenší dávky glukokortikoidu, jak je to možné, aby minimalizoval nežádoucí účinky léčiv. Což je možné jen zřídka, protože zvládnutí imunitně zprostředkovaného zánětu varlat obvykle vyžaduje velké množství glukokortikoidů, které zase podporují neplodnost (Feldman and Nelson, 2004; Svoboda, 2000). Autoimunitní orchitida může být způsobena cytokinem TNF α a IL-1. TNF α je produkován spermatidami, spermatocyty, T-lymfocyty a makrofágy ve varlatech. IL-1 secernují Sertoliho buňky, testikulární makrofágy a případně postmeiotické zárodečné buňky. Zatímco tyto protizánětlivé cytokiny hrají významnou roli v normální testikulární homeostázi, zvýšení jejich exprese může vést k dysfunkcím varlete (Lysiak, 2004).

Epididymitis může být vyvolána primární infekcí nebo rozšířenou infekcí z infikovaného varlete. Z primární epididymitidy může vzniknout orchitida v přidruženém varleti. Obecné znaky epididymitidy jsou podobné jako u orchitidy a to teplota, otok a bolest z postiženého nadvarlete. Jakýkoliv zánět nadvarlete způsobuje neprůchodnost jednotného, vysoce spletitého kanálku, z něhož je složeno nadvarle, což způsobuje ztrátu normální funkce. Jednostranný epididymitis proto způsobuje snížení plodnosti, zatímco bilaterální obstrukce nadvarlete sterilitu. Zneprůchodnění nadvarlete se může také zjistit po prasknutí určitého místa na kanálku a následném úniku spermií do okolní stromální tkáň. V reakci na výskyt cizího (spermiového) antigenu v tkáni vzniká granulom. Jednostranná epididymitis s orchitis způsobuje teplotou indukovanou degeneraci v kontralaterálním varleti (Arthur et al., 2001).

Psí neplodnost má mnoho příčin, které musí být zváženy při posuzování abnormálních reprodukčních funkcí. Důležitým původcem infekcí je *Brucella canis*. *B. canis* je malá, hrubá nebo mukoidní, gramnegativní intracelulární bakterie, která může psa využívat i jako rezervoár. Asymptomatictí psi poskytují útočiště bakteriím *B. canis* i po delší dobu. Doba

mezi počáteční nákazou bakteriemi a jejich lokalizací v cílových tkáních je přibližně 3 týdny. Poté se průběžně ve vlnách uvolňují po dobu měsíců až let. Místem emise *B. canis* bývá prostata a epididymis. Tyto tkáně se stávají zdrojem nákazy za předpokladu, že se pes bude dále pářit. Nejvyšší koncentraci bakterií má ejakulát po prvních 2 měsících po infekci, následuje uvolňování nižší koncentrace / menšího množství po dobu let. Původně byla *B. canis* spojována s plemenem bígl, nyní jsou na seznamu nejčastěji infikovaných psů labradorský retrívr, kokršpaněl, německý ovčák, boston terier, pudli a mnoho dalších. Vyšší prevalence onemocnění je u čistokrevných psů než u kříženců. Dalšími druhy rodu *Brucella*, kterými se psi mohou nakazit jsou *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis* a výjimečně i *Brucella ovis* a *Brucella neotomae*. *Brucella abortus* se psi mohou nakazit, když pozřou tkáň z abortovaného nakaženého plodu dobytka. Převládající cestou, ale zůstává pohlavní přenos, pravděpodobně kvůli vysokému počtu organismů v reprodukčním sekretu. Moč může být také kontaminována, díky těsnému anatomickému připojení močového měchýře s prostatou a nadvarletem (Hollett, 2006). Psí brucelóza je často zodpovědná za rychlý pokles kvality spermatu vyvolaný akutní a častěji chronickou orchiepididymitidou (Fontbonne, 2011). Infekce *Brucella canis* u psů způsobuje neplodnost kvůli produkci abnormálních spermií se sníženou pohyblivostí (Anderson and Binnington, 1983), aglutinaci spermií nebo nepřítomnost spermií (Hollett, 2006), u fen způsobuje potraty a neplodnost. Psi mohou vykazovat známky orchitis, epididymitis, bilaterální nebo unilaterální testikulární atrofii, ztrátu libida a otok šourku. Ve varlatech prakticky neprobíhá spermatogeneze (Anderson and Binnington, 1983; Hollett, 2006). Ve 2-5 týdnu infekce se objeví u postiženého psa vysoký počet abnormálních spermií (30 až 80 %). Testikulární atrofie se může někdy objevit až po delší době v důsledku sekundární fibrózy. Po 10. až 15. týdnu spermogram vykazuje závažné OAT a případně aglutinaci spermií (Fontbonne, 2011). U některých psů se plodnost může obnovit, zatímco jiní mohou zůstat sterilní. Spontánní zotavení může přirozeně nastat 1-5 let po začátku nákazy (Hollett, 2006).

Spermatokéla nebo také stav označovaný jako spermiový granulom. Jde o uzavření vývodných cest a následnou cystickou dilataci nadvarlete s hromaděním sekretu z varlete (Svoboda, 2000). Spermiové granulomy se skládají z nakumulovaných spermií a makrofágů v odvodných kanálcích varlete nebo v přilehlém intersticiu nebo v nadvarletí. Kanálky vedoucí ke granulomu jsou výrazně roztažené nahromaděnými spermii. V části, kde kanálky těsně sousedí s makrofágy se může stát, že spermie a makrofágy se promísí. Makrofágy pohltnou spermie a roztáhnou se. Granulomy mohou být vyvolané traumatem, infekcí, degenerativní změnou, toxiny, parazity nebo dokonce i vrozenou vadou. Léze mohou začínat jako akutní

únik spermií do intersticiálních tkání nebo tvorbou spermatokély a sekundární infiltrací makrofágů. Pokud dojde ke ztrátě integrity epitelu a její bazální membrány, zánět se rozšíří i do sousedního intersticia. Léze vyskytující se v ocasu nadvarlete jsou pravděpodobněji způsobené stoupající infekcí, zatímco granulomy objevující se v hlavně nadvarlete jsou častěji kvůli aberujícím kanálkům. Léze způsobené toxiny se většinou nacházejí v hlavě nebo tělu nadvarlete. Dopady na plodnost psa jsou závislé hlavně na velikosti a místě, kde se léze v nadvarletu nachází (Foley et al., 1995). Buněčné poškození při zánětu nadvarlete vyvolá uvolnění antigenních látek do okolních tkání, které stimulují protilátky proti spermiím, humorální a buněčnou imunitní odpověď (Hollett, 2006). Malé izolované léze v jediném eferentním kanálku nemá žádný vliv na plodnost, protože varle a nadvarle jsou spojeny více odvodnými kanálky (Foley et al., 1995). Proces může probíhat jednostranně nebo oboustranně (nemoci psa a kočky). V případě, že se spermiový granulom nachází pouze v jednom nadvarletu a okludoval transport spermií, nemusí být klinicky pozorovatelné příznaky ve kvalitě ejakulátu nebo na plodnost, za předpokladu, že druhé varle je zdravé (Foley et al., 1995; Svoboda, 2000). U oboustranné spermatokély proces zapříčiňuje azoospermii a neplodnost (Svoboda, 2000).

Testikulární neoplazie se běžně vyskytuje u psů, více než u jiných domácích zvířat. K nejčastějším nádorům patří nádory Sertoliho buněk, intersticiálních buněk a seminom (Grieco et al., 2008b; Reimann-Berg et al., 2008; Berg et al., 2008; Arthur et al., 2001). Tyto nádory se nejčastěji vyskytují u psů starších 9 let (Reimann-Berg et al., 2008; Berg et al., 2008). Jedná se o nádory odpovědné za nadměrnou sekreci hormonů, které mohou způsobit pokles spermatogeneze, a to i když se tyto nádory nacházejí pouze na jednom varletu a mají poměrně malé rozměry. Plodnost je negativně ovlivněna díky přímé destrukci testikulární tkáně, indukci zánětu, zvýšení intraskrotální teploty a produkci estrogen a androgenu, která může působit negativní zpětnou vazbu na hypotalamus a hypofýzu (Fontbonne, 2011). Celkově lze říci, že testikulární nádory u psů tvoří více než 10 % nádorů, s výrazně zvýšeným výskytem u psů s nesestouplými varlaty (Arthur et al., 2001).

4. Závěr

Tato bakalářská práce přináší nejnovější studie a poznatky ohledně faktorů, které ovlivňují kvalitu spermatu u chovných psů. Ze zpracovaných údajů vyplývá, že by chovatelé chovných psů se měli více věnovat výše zmíněným faktorům, protože nemusí ohrožovat jen samotnou plodnost psa, ale i celkové zdraví jedince. Majitelé by měli pamatovat na každodenní život a pohodu psa. Ze zdrojů vyplývá, že důležité je kvalitní krmivo psa, protože i tyto faktory mají veliký vliv na celkovou reprodukci. Zvíře by nemělo být zbytečně stresované, ale naopak by mu měl být poskytnut co nejlepší welfare. Dobrý welfare je spojen i s životním prostředím, ve kterém zvíře žije. Vrozené nebo získané nemoci mohou být také důvodem k poruše reprodukce. Pro správnou diagnostiku a léčbu je nutné se obrátit na veterináře.

5. Seznam literatury

- Ahsan, U., Kamran, Z., Raza, I., Ahmad, S., Babar, W., Riaz, M. H., Iqbal, Z. 2014. Role of selenium in male reproduction – A review. *Animal Reproduction Science*. 146. 55-62.
- Albrizio, M., Siniscalchi, M., Sasso, R., Quaranta, A. 2013. Effects of the environment on dog semen parameters and testosterone concentration. *Theriogenology*, 80 (7). 800-804.
- Anderson, G. I., Binnington, A. G. 1983. Discospondylitis and orchitis associated with high brucella titre in a dog. *The Canadian Veterinary journal*. 24(8). 249-252.
- Arthur, G. H., Noakes, D. E., Parkinson, T. J., England, G. C. W. 2001. *Arthur's Veterinary Reproduction and obstetrics*. Eighth edition. Saunders. London. 868 s. ISBN: 0-7020-2556-9.
- Bellingham, M., Fiandanese, N., Byers, A., Cotinot, C., Evans, N. P., Pocar, P., Fowler, P. A. 2012. Effects of exposure to environmental chemicals during pregnancy on the development of the male and female reproductive axes. *Reproduction in domestic animals*, 47(4), 15-22.
- Camara, L. B. R. M., Camara, D. R., Malorino, F. C., Júnior, V. A. S., Guerra, M. M. P. 2014. Canine testicular disorders and their influence on sperm morphology. *Animal reproduction*. 11(1). 32-36.
- Conquer, J. A., Martin, J. B., Tummon, I., Watson, L., Tekpetey, F. 2000. Effect of DHA supplementation on DHA status and sperm motility in asthenozoospermic males. *Lipids*, 35(2), 149-154.
- Dahlbom, M., Andersson, M., Vierula, M., Alanko, M. 1997. Morphometry of normal and teratozoospermia canine sperm heads using an image analyzer: work in progress. *Theriogenology*. 48. 687-698.
- Danikowski, S., Sallmann, H. P., Halle, I., Flachowsky, G. 2002. Influence of high levels of vitamin E on semen parameters of cocks. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 86(11-12), 376-382.
- Dankers, A. C., Roelofs, M. J., Piersma, A. H., Sweep, F. C., Russel, F. G., van den Berg, M., Masereeuw, R. 2013. Endocrine disruptors differentially target ATP-binding cassette transporters in the blood-testis barrier and affect Leydig cell testosterone secretion in vitro. *Toxicological sciences*. 136(2). 382-391.
- Dix, C. J., Habberfield, A. D., Sullivan, M. H., Cooke, B. A. 1984. Inhibition of steroid production in Leydig cells by non-steroidal anti-inflammatory and related compounds:

- evidence for the involvement of lipoxygenase products in steroidogenesis. *Biochem. J.* 219, 529-537.
- Dodé, C., Hardelin, J.-P. 2009. Kallmann syndrome. *European Journal of Human Genetics.* 17. 139-146.
- Domoslawska, A., Zduńczyk, S., Nizański, W., Jurczak, A., Janowski, T. 2015. Effect of selenium and vitamin E supplementation on semen quality in dogs with lowered fertility. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy.* 59(1). 85-90.
- Feldman, E. C., Nelson, R. W., 2004. *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction.* Third edition. Elsevier Science. USA. 1089 s. ISBN: 0-7216-9315-6.
- Filipčík, R., Vágenknechtová, M., Hošek, M., Jarinkovičová, L. 2014. The effect of the age of dogs on their ejaculate. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis,* 59(3), 45-50.
- Foley, G. L., Bassily, N., Hess, R. A., 1995. Intratubular spermatic granulomas of the canine efferent ductules. *Toxicologic pathology.* 23(6). 731-734.
- Fontbonne, A. 2011. Infertility in male dogs: recent advances. *Rev Bras Reprod Anim.* 35(2). 266-273.
- Gamčík, P., Kozumplík, J., Schvarc, F., Zibrín, M., Vlček, Z. 1984. *Andrológia a umělá inseminácia hospodárskych zvierat.* Priroda. Bratislava. 344 s.
- Grieco, V., Riccardi, E., Greppi, G. F., Teruzzi, F., Iermano, V., Finazzi, M. 2008a. Canine testicula tumours: a Study on 232 dogs. *Journal of Comparative pathology.* 138. 86-89
- Grieco, V., Riccardi, E., Veronesi, M. C., Giudice, C., Finazzi, M. 2008b. Evidence of testicular dysgenesis syndrome in the dog. *Theriogenology,* 70(1), 53-60.
- Hafez, B., Hafez, E. 2000. *Reproduction in farm animals.* 7th edition. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. 509 s. ISBN: 0683305778.
- Hatamoto, L. K., Sobrinho, C. B., Nichi, M., Barnabe, V. H., Barnabe, R. C., Cortada, C. N. M. 2006. Effects of dexamethasone treatment (to mimic stress) and Vitamin E oral supplementation on the spermogram and on seminal plasma spontaneous lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in dogs. *Theriogenology,* 66(6), 1610-1614.
- Hollett, R. B. 2006. Canine brucellosis: outbreaks and compliance. *Theriogenology.* 66. 575-587.
- Humphrey, J. D., Ladds, P. W. 1975. Pathology of the bovine testis and epididymis. *Veterinary Bulletin.* 45. 787-797.
- Hotchkiss, R. S. 1951. Diagnosis of testicular deficiencies. *Bulletin of the New York Academy of Medicine.* 27 (8). 510-520.
- Chan, Y.-M., Guillebon, A., Lang-Muritano, M., Plummer, L., Cerrato, F., Tsiaras, S., Gaspert, A., Lavoie, H. B., Wu, Ch.-H., Crowley, W. F., Amory, J. K., Seminara, S. B. 2009. GNRH1 mutations in patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *PNAS.* 106 (28). 11703-11708.
- Chenoweth, P. J. 2005. Genetic sperm defects. *Theriogenology.* 64. 457-468.
- Jelínek, P., Koudela, K., Doskočil, J., Illek, J., Kotrbáček, V., Kovářů, F., Kroupová, V., Kučera, M., Kudláč, E., Trávníček, J., Valent, M. 2003. *Fyziologie hospodárskych zvierat.* Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. Brno. 414 s. ISBN: 80-7157-644-1.
- Kang, J. H., Kondo, F. 2002. Determination of bisphenol A in canned pet foods. *Research in veterinary science,* 73(2), 177-182.
- Kliment, J., Hintnaus, J., Novák, M., Rob, O., Šťastný, P. 1983. *Reprodukcia hospodárskych zvierat.* Priroda. Bratislava. 376 s.
- König, H. E., Liebich H. G. 2002. *Anatomie domácich cicavcov 2.* Hajek&Hajkova. Bratislava. 415 s. ISBN: 8088700574.
- Liu, D. Y., Sie, B. S., Liu, M. L., Agresta, F., Baker, H. E. 2009. Relationship between seminal plasma zinc concentration and spermatozoa – zona pellucida binding and the ZP –

- induced acrosome reaction in subfertile men. *Asian Journal of Andrology*. 11 (4). 499-507.
- Lowseth, L. A., Gerlach, R. F., Gillett, N. A., Muggenburg, B. A. 1990. Age-related changes in the prostate and testes of beagle dog. *Veterinary Pathology*. 27. 347-353.
- Lyle, S. K. 2007. Disorders of sexual development in the dog and cat. *Teriogenology*. 68. 338-343.
- Lysiak, J. J. 2004. The role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 in the mammalian testis and their involvement in testicular torsion and autoimmune orchitis. *Reproductive biology and endocrinology*. 2. 9.
- Madding, C. I., Jacob, M., Ramsay, V. P., Dokol, R. Z. 1986. Serum and semen zinc levels in normozoospermic and oligozoospermic men. *Annals of nutrition and metabolism*. 30 (4). 213-218.
- Marques-Pinto, A., Carvalho, D. 2013. Human infertility: are endocrine disruptors to blame?. *Endocrine connections*. 2. R15-R29.
- Martins, M. I. M., Souza, F. F., Oba, E., Lopes, M. D. 2006. The effect of season on serum testosterone concentrations in dogs. *Theriogenology*. 66. 1603-1605.
- Marvan, F., Hampl, A., Hložánková, E., Kresan, J., Massanyi, L., Vernerová, E., Jelínek, K. 2011. *Morfologie hospodářských zvířat*. Brázda. Praha. 328 s. ISBN: 978-80-213-2188-5.
- Meeker, J. D., Rossano, M. G., Protas, B., Diamond, M. P., Puscheck, E., Daly, D., Paneth, N., Wirth, J. J. 2008. Cadmium, lead, and other metals in relation to semen quality: human evidence for molybdenum as a male reproductive toxicant. *Environ Health Perspect*, 116(11), 1473-1479.
- Memon, M. A. 2007. Common causes of male dog infertility. *Theriogenology*. 68. 322-328.
- Merveille, A-CH., Davis, E. E., Becker-Heck, A., Legendre, M., Amirav, I., Géraldine, B., Belmont, J., Beydon, N., Billen, F., Clément, A., Clercx, C., Coste, A., Crosbie, R., Blic, J., Deleuze, S., Duquesnoy, P., Escalier, D., Escudier, E., Fliegau, M., Horvarh, J., Hill, K., Jorissen, M., Just, J., Kispert, A., Lathrop, M., Loges, T. N., Marthin, J. K., Momozawa, Y., Montantin, G., Nielsen, G. K., Olbrich, H., Papon, J.-F., Rayet, I., Roger, G., Schmidts, M., Tenreiro, H., Towbin, J. A., Zelenika, D., Zentgraf, H., Georges, M., Lequarré, A.-S., Katsanis, N., Omran, H., Amselem, S. 2011. CCDC39 is required for assembly of inner dynein arms and the dyneinregulatory complex and for normal ciliary motility in humans and dogs. *Nature Genetics*. 43. 72-78.
- Meyers-Wallen, V. N. 2011. Gonadal and sex differentiation abnormalities of dogs and cats. 6. 46-60.
- Morrison, W. B., Wilsman, N. J., Fox, L. E., Farnum, C. E. 1987. Primary ciliary dyskinesia in the dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1. 67-74.
- Nachtigall, L. B., Boepple, P. A., Francouis, P., Crowley, W. F. 1997. Adult-onset idiopathic hypogonadotropic hypogonadism – a treatable form of male infertility. *The New England Journal of Medicine*. 336. 410-415.
- Neill, J. D., Challis, J. R. G., Kretser, D. M., Pfaff, D. W., Richards, J. S., Plant, T. M., Wassarman, P. M. 2006. *Knobil and Neill's Physiology of reproduction*. Academic press. Amsterdam. 1726 s. ISBN: 9780125154000.
- Ortega-Pacheco, A., Segura-Correa, J. C., Bolio-Gonzalez, M. E., Jiménez-Coello, M., Forsberg, C. L. 2006. Reproductive patterns of stray male dogs in the tropics. *Theriogenology*. 66. 2084-2090.
- Ott, R. S., Heath, E. H., Bane, A. 1982. Abnormal spermatozoa, testicular degeneration, and varicocele in a ram. *American Journal of Veterinary Research*. 43 (2). 241-245.
- Reece, W. O. 2011. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Druhé rozšířené vydání. Grada Publishing. Praha. 480 s. ISBN: 978-80-247-3282-4.
- Reimann-Berg, N., Escobar, H. M., Nolte, I., Bullerdiek, J. 2008. testicular tumor in an XXY dog. *Cancer genetics and cytogenetics*. 183. 114-116.

- Rhodes, A. P. 1976. The effect of extensive chorioptic mange of the scrotum on reproductive function of the ram. *Australian Veterinary Journal*. 52. 250-257.
- Rijsselaere, T., Maes, D., Hoflack, G., De Kruif, A., Van Soom, A. 2007. Effect of Body Weight, Age and Breeding History on Canine Sperm Quality Parameters Measured by the Hamilton-Thorne Analyser. *Reproduction in domestic animals*, 42(2), 143-148.
- Rocha, A. A., Cunha, I. C. N., Ederli, B. B., Albernaz, A. P., Quirino, C. R. 2009. Effect of daily food supplementation with essential fatty acids on canine semen quality. *Reproduction in domestic animals*. 44 (2). 313-315.
- Romagnoli, S., Bonaccini, P., Stelletta, C., Garolla, A., Menegazzo, M., Foresta, C., Mollo, A., Miliani, C., Gelli, D. 2009. Clinical use of testicular fine needle aspiration cytology in oligozoospermic and azoospermic dogs. *Reproduction domestic animals*. 44. 329-333.
- Schechter, A., Malik, N., Haffner, D., Smith, S., Harris, T. R., Paepke, O., Birnbaum, L. 2010. Bisphenol A (BPA) in US Food. *Environmental science & technology*, 44(24), 9425-9430.
- Suleiman, S. A., Ali, M. E., Zaki, Z. M. S., El-Malik, E. M. A., Nasr, M. A. 1996. Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E. *Journal of andrology*, 17(5), 530-537.
- Svoboda, M., Senior, D. F., Doubek, J., Klimeš, J. 2000. Nemoci psa a kočky. Česká asociace veterinárních lékařů malých zvířat. Brno. 1014 s. ISBN: 80-902595-2-9.
- Taha, M. B., Noakes, D. E., Allen, W. E. 1981. The effect of season of the year on the characteristics and composition of dog semen. *Journal of Small Animal Practice*, 22(4), 177-184.
- Telisman, S., Cvitković, P., Jurasović, J., Pizent, A., Gavella, M., Rocić, B. 2000. Semen quality and reproductive endocrine function in relation to biomarkers of lead, cadmium, zinc, and copper in men. *Environmental Health Perspectives*, 108(1), 45.
- Tvrda, E., Peer, R., Sikka, S. C., Agarwal, A. 2015. Iron and copper in male reproduction: a double-edged sword. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 32(1), 3-16.
- Vágenknechtová, M., Hošek, M., Máchal, L., Chládek, G. 2014. The influence of external and internal factors on the quality of semen collection and qualitative indicators of semen in the dog (*Canis familiaris*). *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 59(6), 373-380.
- Wong, W. T., Dhaliwal, G. K. 1985. Observations on semen quality of dogs in the tropics. *The Veterinary record*, 116(12), 313-314.
- Wong, W. Y., Flik, G., Groenen, P. M., Swinkels, D. W., Thomas, C. M., Copius-Peereboom, J. H., Steegers-Theunissen, R. P. 2001. The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men. *Reproductive toxicology*, 15(2), 131-136.
- Wooten, K. J., Smith, P. N. 2013. Canine toys and training devices as sources of exposure to phthalates and bisphenol A: quantitation of chemicals in leachate and in vitro screening for endocrine activity. *Chemosphere*, 93(10), 2245-2253.
- Yang, C. Z., Yaniger, S. I., Jordan, V., Klein, D. J., Bittner, G. D. 2011. Most plastic products release estrogenic chemicals: a potential health problem that can be solved. *Environmental Health Perspectives*, 119(7), 989-996.
- Sha, Y. -W., Ding, L., Li, P. 2014. Management of primary ciliary dyskinesia/Kartagener's syndrome in infertile male patients and current progress in defining the underlying genetic mechanism. *Asian Journal of Andrology*. 16. 101-106.
- Yates, D., Hayes, G., Heffernan, M., Beynon, R. 2003. Incidence of cryptorchidism in dogs and cats. *Vet Rec*. 152. 502-504.
- Youngquist, R. S., Threlfall, W. R. 2007. Current therapy in large animal theriogenology. – Second edition. Saunders Elsevier. St. Louis. 1088 s. ISBN: 9780721693231.