Nowe kierunki w inseminacji trzody chlewnej

Damian Knecht, Kamil Duziński

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Przedłużenie ciągłości gatunku jest najważniejszym zadaniem każdej populacji. Komórki rozrodcze ludzi i zwierząt są wykorzystywane do udoskonalania technik zapłodnienia, w obliczu coraz częściej występującej niepłodności. Nieustanny rozwój technologii produkcji zwierząt gospodarskich prowadzi do sięgania po coraz bardziej zaawansowane rozwiązania. Postęp hodowli trzody chlewnej oparty jest w dużej mierze na metodach biotechnologicznych, szczególnie w zakresie rozrodu. Wykorzystanie nowoczesnych osiągnięć nauki pozwala na powszechne wdrożenie metod bardzo skomplikowanych i zaawansowanych. Niestety wciąż jeszcze napotyka się problemy natury inwazyjności i efektywności, które ograniczają ich komercjalne użycie.

Sztuczne unasienianie

Po raz pierwszy próby sztucznego unasieniania trzody chlewnej przeprowadzone zostały przez Ivanowa w Rosji w 1907 r., a kontynuację badań w tej dziedzinie na szerszą skalę podjęto po roku 1930, choć dopiero w latach 70. poprzedniego wieku nastąpił intensywny rozwój i szerokie komercyjne zastosowanie [2]. Pionierem w tej dziedzinie była Europa, natomiast w USA bardzo powoli uznawano korzyści z niej płynące i powszechne stosowanie tej techniki rozpoczęto z początkiem lat 90. [5]. Sztuczne unasienianie zaczęło być doskonałym narzędziem do szybkiej realizacji postępu genetycznego. Obecnie inseminowanych jest 40-45% wszystkich loch populacji światowej, a mrożone nasienie stanowi zaledwie ok. 1-2% [3]. Szacuje się, że w Europie najwięcej loch, ok. 80% populacji i więcej, inseminowanych jest w Belgii, Holandii, Norwegii, Hiszpanii i we Włoszech, a w obu Amerykach: w USA, Kanadzie i Brazylii ok. 75% populacji [20].

Wraz z rozwojem inseminacji zaczęły się przed nią pojawiać nowe wyzwania stawiane przez naukowców. Głównym i wciąż aktualnym kierunkiem jest możliwie jak największa redukcja liczby deponowanych plemników, bez niekorzystnego wpływu na skuteczność zapłodnienia i liczebność miotów. Rozpoczęto stosowanie inseminacji głębokiej (za szyjkę macicy) oraz ultragłębokiej (do rogów macicy) oraz mrożonego nasienia. Skutkowało to potrzebą stworzenia nowych kateterów, a przede wszystkim ograniczeniem wielkości dawek inseminacyjnych. W jednym z doświadczeń uzyskano nawet 75% skuteczności zapłodnienia przy inseminacji głębokiej i koncentracji plemników w dawce inseminacyjnej na poziomie $50x10^6$ [14]. Uważa się ją za prostą, efektywną i bezpieczną metodę, z możliwością redukcji dawki nawet do $1x10^9$ plemników. Z kolei stosowanie inseminacji ultragłębokiej w głównej mierze rzutuje na nieco mniejszą liczbę urodzonych prosiąt oraz kilkuprocentowy spadek skuteczności zapłodnienia w stosunku do inseminacji płytkiej [23]. Jak do tej pory, najgorsze wyniki z wymienionych powyżej technik odnotowuje się przy stosowaniu mrożonego nasienia, głównie ze względu na większe (2-3-krotne) zapotrzebowanie na plemniki, mniejszą liczebność miotów (o 1-3 prosię) i niższe wskaźniki zapłodnienia [5].

Seksowanie plemników

Technologia sortowania plemników ze względu na występowanie w nim chromosomu X lub Y zaczyna być coraz chętniej propagowana. W ten sposób można otrzymywać potomstwo o określonej (z góry wiadomej) płci i przystosować odpowiednio proces produkcyjny w fermie. Z drugiej strony, stanowi jedno z rozwiązań wpływających na ograniczenie kastracji knurków, która staje się poważnym problemem w kwestii dobrostanu zwierząt [20]. Jak wiadomo, za płeć potomstwa odpowiada ojciec, dokładniej plemnik zawierający w sobie chromosom X lub Y, a prawdopodobieństwo wynosi 50:50. Barwniki fluorochromowe wnikają w główkę plemnika i łączą z DNA. Różnica w wielkości między chromosomem X (większy) i Y (mniejszy), a – co z tym się wiąże – intensywnością fluorescencji w świetle lasera, pozwala na rozdział plemników przy użyciu metody cytometrii przepływowej [8]. Niektóre badania wskazują, że podczas operacyjnego deponowania w spojeniu między rogami macicy a jajowodem schłodzonych seksowanych plemników o koncentracji $10x10^6$, można uzyskać skuteczność zapłodnienia nawet na poziomie 89% [10]. Dla osiągania najlepszych wyników w stosowaniu tego rodzaju nasienia zaleca się ścisłe określanie czasu owulacji. W praktyce najłatwiej jest to zastosować w połączeniu z inseminacją głęboką. Takie rozwiązanie jest możliwe i opłacalne tylko wtedy, gdy nieustannie ograniczać się będzie liczbę plemników w dawce inseminacyjnej. Obecnie do takich metod niektórzy autorzy zaliczają: zapłodnienie *in vitro*, mikroiniekcję plemników czy deponowanie nasienia do jajowodów, gdzie ilość plemników jest ograniczona przedziałem od 20 do 1000 [18].

Inseminacja laparoskopowa

Laparoskopia jest metodą wygodną i mało inwazyjną. Dzięki niej możliwe jest zdeponowanie plemników prosto do sklepienia rogów macicy i jajowodów. Sam zabieg wymaga dużej wprawy i doświadczenia. Szacuje się, że można wykonać go szybko, w ciągu 15-20 minut (przy sprawnym działaniu personelu), pod całkowitą narkozą [20]. Lochę układa się w pozycji Trendelemburga pod kątem około 20º i dokonuje nacięcia (ok. 1,5 cm) w pobliżu okolicy pępkowej, z wykorzystaniem dodatkowo laparoskopu i trokarów [23]. Zwierzęta najczęściej po kilku godzinach są w stanie bez problemów funkcjonować. Rany w obrębie otrzewnej nie wymagają szycia i nie powstają zrosty w obrębie narządów wewnętrznych [25]. Precyzyjne miejsce zdeponowania dawki inseminacyjnej niewątpliwie jest bardzo korzystne. Laparoskopowa inseminacja daje zadowalające rezultaty przy wykorzystaniu nasienia świeżego bądź mrożonego. Osiągano wysoki wskaźnik zapłodnienia przy zredukowanej dawce inseminacyjnej, wynoszącej $5x10^6$ i $0,3x10^6$ w trakcie inseminacji, przy umiejscowieniu plemników bezpośrednio w początkowej części jajowodu [1, 22]. Określenie liczby dojrzewających oocytów może być również przydatne dla samej zasadności zastosowania zabiegu. Podkreśla się, że metoda może być jedyną uzasadnioną do stosowania dawek inseminacyjnych z wyraźnie obniżoną zawartością plemników, bez negatywnego wpływu na liczbę urodzonych prosiąt i skuteczność zapłodnienia, zwłaszcza w okresie bezpośrednio przed owulacją.

Mikrokapsułkowanie plemników

Mikrokapsułkowanie jest procesem otaczania komórek, tkanek lub substancji w błonie półprzepuszczalnej [17]. Głównym założeniem jest utrzymanie żywotności plemników i stopniowe ich uwalnianie przy redukcji działania wstecznego macicy oraz fagocytozy przez leukocyty [7]. Na przestrzeni lat udało się wykorzystać tę metodę dla hepatocytów, wysepek Langerhansa, komórek nowotworowych, komórek kory nadnerczy. Mikrokapsułkowanie plemników można wykonać bez rozcieńczenia. Otrzymane w ten sposób kapsułki posiadają rdzeń zawierający wysokie stężenie plemników, z błoną oddzielającą je od medium [24]. Żywotność plemników zachowana jest dzięki półprzepuszczalnej błonie, która pozwala na wymianę substancji odżywczych i metabolitów z medium, w którym są zanurzone. Powszechne stosowanie rozcieńczalników może ujemnie wpływać na ruchliwość plemników, spowodowaną przemianami w błonie komórkowej. Mikrokapsułkowanie jest bardzo korzystnym rozwiązaniem w inseminacji połączonej z kontrolowanym uwalnianiem plemników, następuje bowiem ich stopniowe uwalnianie w ciągu kilku godzin lub nawet dni w układzie rozrod-

czym lochy [20]. Dlatego nie jest już tak ważny dokładny termin owulacji. Należałoby jednak przeanalizować, na ile po dłuższym czasie przebywania w organizmie zachowana jest żywotność i ruchliwość plemników. Uznaje się, że mikrokapsułkowanie może korzystnie wpływać na długość przechowywania porcji inseminacyjnej. Badania wskazują, że stosowanie tego rodzaju nasienia w inseminacji płytkiej może dać 75% skuteczności zapłodnienia i liczbę urodzonych prosiąt na poziomie 12,3 [7]. Jednak ze względu na wymaganą dużą koncentrację plemników w tej metodzie, zasadne jest powszechniejsze jej wykorzystywanie w inseminacji głębokiej i ultragłębokiej.

Liofilizowanie plemników

Liofilizacja jest metodą polegającą początkowo na mrożeniu zawiesiny komórek, a następnie suszeniu poprzez sublimację lodu w próżni [16]. Tak przygotowane plemniki można przechowywać w temperaturze otoczenia, a rozpuszczać poprzez rehydratację. Stanowi to alternatywną metodę dla długiego przechowywania nasienia. Ta technika jest jednak wciąż w fazie ciągłego testowania i doskonalenia. Opracowana została w celu przechowywania bioaktywnych cząsteczek (DNA, enzymów, białek), produktów farmaceutycznych (antybiotyków) oraz innych [15]. Niektóre badania przedstawiają możliwości wykorzystania liofilizowanych plemników tylko w metodzie mikroiniekcji u trzody chlewnej, ze względu na utratę ruchliwości po rehydratacji [11]. Jako zalety w stosunku do metod mrożenia konwencjonalnego wyróżnia się: niższe koszty, niewykorzystywanie ciekłego azotu, wymaganą mniejszą ilość miejsca do przechowywania gamet oraz obniżenie kosztów transportu nasienia.

Transfer genów przy pomocy plemników (sperm-mediate gene transfer – SMGT)

Używanie plemników jako wektorów do przenoszenia zamierzonych genów lub określonych sekwencji DNA do oocytu w wyniku zapłodnienia stanowi jedną z metod uzyskiwania transgenicznych świń, a częstotliwość uzyskiwania potomstwa tą metodą waha się w szerokich granicach od 5 do 60% [12]. Opiera się to na rzeczywistej zdolności plemników do wiązania i internalizacji egzogennego DNA, a potem przeniesienia go do oocytu w trakcie zapłodnienia [20]. Inkubowane plemniki pochodzące z ejakulacji mają zdolność włączenia DNA do ich jąder w ciągu 1-2 godzin, choć jest to również zależne osobniczo, stąd bardzo istotna jest selekcja knurów dawców pod tym względem. Optymalny stosunek między DNA a liczbą plemników wynosi 40 µg DNA/10^8 plemników/ml [1]. Pierwsze uzyskane tą metodą 93 transgeniczne prosięta urodziły się po inseminacji płytkiej, od 15 loch, porcją nasienia zawierającą 1-1,5x10^9 plemników [13]. W praktyce hodowlanej może być to wykorzystywane do produkcji osobników o specyficznym rodzaju mięsa wieprzowego lub o obniżonej zdolności emisji gazów, obciążających środowisko naturalne w miejscu występowania fermy [6, 21]. Stanowi to nowe i ciekawe rozwiązanie, mogące skutecznie przeciwdziałać niektórym problemom w wielkotowarowej produkcji trzody chlewnej. Wśród największych zalet wymienia się wysoką wydajność, niski koszt i łatwość użycia w porównaniu do innych metod, a dodatkowo nie wymaga obsługi zarodków ani zbyt kosztownych urządzeń [13].

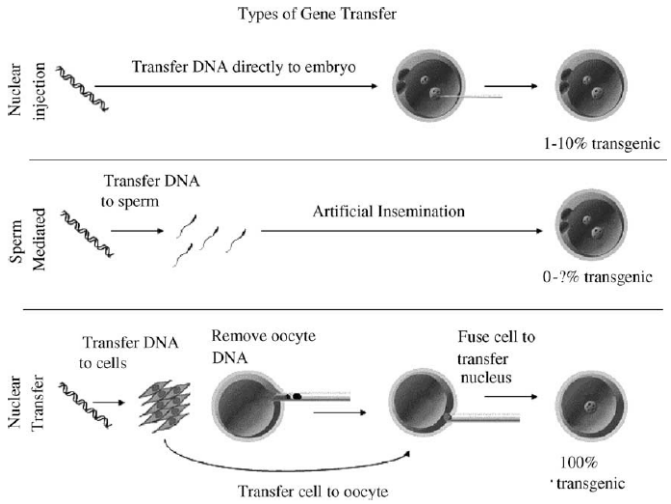
Docytoplazmatyczna iniekcja plemnika (ICSI)

Technika ICSI (intracytoplasmic sperm injection) polega na zapłodnieniu oocytu w stadium metafazy II poprzez iniekcję plemnika do komórki jajowej lub przestrzeni pomiędzy osłonką przejrzystą a komórką jajową, wraz z akrosomem i nienaruszoną błoną plemnika [4]. Pierwsze opublikowane udane doświadczenie przeprowadzono w 1976 roku na chomikach [4]. Dla zwierząt gospodarskich zastosowanie ICSI ma pewne zalety, poprzez uzyskanie licznego potomstwa z bardzo małej koncentracji plemników lub nawet z jednego plemnika, ponadto wstrzyknięte plemniki nie muszą się poruszać ani posiadać witki. Dzięki tej metodzie po raz pierwszy, a teraz coraz powszechniej, podjęto próbę wykorzystania plemników liofilizowanych [11]. Jako zaletę tej techniki rozrodu niektórzy autorzy dodają poprawę zdolności zapłodnienia nasieniem seksowanym. Zastosowanie metody mikroiniekcji dla trzody chlewnej nie było pomysłem nowatorskim. Wcześniej takie zabiegi skutecznie przeprowadzano już u ludzi, myszy, królików, kotów, bydła oraz owiec. Kluczowym problemem u świń jest przenoszenie wczesno powstałych embrionów, które w dużej mierze nie kończyło się podtrzymaniem ciąży u biorczyń [9]. Za pomocą techniki ICSI zaobserwowano również prawidłową formację embrionów zarówno poprzez standardową iniekcję plemnika, jak i iniekcję tylko główki plemnika do oocytów loszek [9]. Funkcjonalne mikrotubule dla całkowitego zapłodnienia zostają wytworzone wyłącznie z matczynych zapasów [4]. Zastosowanie metody mikroiniekcji plemników ma wspomagać i służyć przede wszystkim produkcji transgenicznych osobników, ochronie bioróżnorodności biologicznej, rozwiązywaniu niektórych powstałych problemów w metodzie zapłodnienia *in vitro* [4]. Bezpośrednia mikroiniekcja transgenu do przedjądrza zygoty jest najpowszechniejszą metodą stosowaną do uzyskiwania transgenicznych świń.

Przenoszenie jądra komórki somatycznej (SCNT)

W ostatnich latach opracowano również metodę wprowadzania genów do linii zarodkowej dla świń, zwanej klonowaniem, czyli przenoszeniem jądra komórki somatycznej (somatic cell nuclear transfer SCNT) [19]. Jest to proces dwuetapowy, obejmujący transfekcję transgenu do komórek somatycznych (głównie fibroblastów) w trakcie hodowli *in vitro*, a następnie wstawienia jądra transgenicznych komórek do oocytu poprzez transfer jądra [5]. Zaletą jest selekcjonowanie genotypu w trakcie hodowli *in vitro*, a w miejscu wprowadzenia transgenu następuje wkomponowanie poprzez rekombinację homologiczną. Uznaje się, że ta metoda może być coraz powszechniej stosowana w przypadku transferu genów u świń, ze względu na większy możliwy szereg modyfikacji genetycznych [23].

Trzy rodzaje transferu genów, tj. mikroiniekcja, transfer genów przy pomocy plemników i przenoszenie jądra komórki somatycznej, zostały przedstawione na rysunku.



Rys. Metody transferu genów [5]

Podsumowanie

Przedstawione w artykule metody pozwalają na coraz szersze zastosowanie materiału biologicznego także w ramach techniki sztucznego unasieniania. Wykorzystanie inseminacji głębokiej, ul-

tragłębokiej czy laparoskopowej daje możliwości skutecznej redukcji liczebności plemników w dawce inseminacyjnej. Seksowanie, liofilizacja czy mikrokapsułkowanie nasienia pozwala na wstępną obróbkę plemników do dalszego przechowywania lub bezpośrednio przed samym momentem zdeponowania ich w drogach rodnych lochy. Rozwój technologii transferu genów (mikroiniekcja, transfer przy pomocy plemników, przenoszenie jądra komórki somatycznej) pozwolił na izolacje pojedynczych genów i przenoszenie ich do genomów zwierząt. Ma to szczególne znaczenie dla rozwijającej się dziedziny ksenotransplantacji, a co za tym idzie – produkcji transgenicznych świń. Powszechność zastosowania wyżej wymienionych metod jest jednak uwarunkowana ekonomiczną opłacalnością oraz możliwością ich użycia w warunkach terenowych. Duże wysiłki powinny być skierowane głównie na udoskonalanie metod wprowadzania plemników i ich wstępnego przygotowania, co powinno wpłynąć na poprawę efektywności funkcjonowania obiektów. Kontynuacja badań nad biotechnologią w rozrodzie świń zapewne wpłynie na popularyzację niektórych rozwiązań i ich wdrożenie do praktyki produkcyjnej.

Literatura: 1. Fantinati P., Zannoni A., Bernardini C., Webster N., Lavitrano M., Forni M., Seren E., Bacci M.L., 2005 – Theriogenology 63, 806--817. **2. Foote R.H.**, 2002 – J. Anim. Sci. 80, 1-10. **3. Gajda B., Smorąg Z.**, 2007 – Biotechnologia 79, 55-65. **4. Garcia-Rosello E., Garcia-Mengual E., Coy P., Alfonso J., Silvestre M.A.**, 2009 – Reprod. Domest. Anim. 44, 143-151. **5. Gerrits R.J., Lunney J.K., Johnson L.A., Pursel V.G., Kraeling R.R., Rohrer G.A., Dobrinsky J.R.**, 2005 – Theriogenology 63, 283-299. **6. Golovan S.P., Meidinger R.G., Ajakaiye A., Cottrill M., Wiederkehr M.Z., Barney D.J., Plante C., Pollard J.W., Fan M.Z., Hayes M.A., Laursen J., Hjorth J.P., Hacker R.R., Phillips J.P., Forsberg C.W.**, 2001 – Nat. Biotechnol. 19, 741-745. **7. Huang S.Y., Tu C.F., Liu S.H., Kuo Y.H.**, 2005 – Anim. Reprod. Sci. 87, 111-120. **8. Johnson L.A., Rath D., Vazquez J.M., Maxwell W.M., Dobrinsky J.R.**, 2005 – Theriogenology 63, 615-624. **9. Kolbe T., Holtz W.**, 2000 – Anim. Reprod. Sci. 64, 97-101. **10. Krueger C., Rath D.**, 2000 – Reprod. Fertil. Dev. 12, 113-117. **11. Kwon I.K., Park K.E., Niwa K.**, 2004 – Biol. Reprod. 71, 1430-1436. **12. Lavitrano M., Busnelli M., Cerrito M.G., Giovannoni R., Manzini S., Vargiolu A.**, 2006 – Reprod. Fertil. Dev. 18, 19-23. **13. Lavitrano M., Forni M., Bacci M.L., Di Stefano C., Varzi V., Wang H., Seren E.**, 2003 – Mol. Reprod. Dev. 64, 284-291. **14. Martinez E.A., Vazquez J.M., Roca J., Lucas X., Gil M.A., Parrilla I., Vazquez J.L., Day B.N.**, 2002 – Reproduction 123, 163-170. **15. Martins C.F., Bao S.N., Dode M.N., Correa G.A., Rumpf R.**, 2007 – Theriogenology 67, 1307-1315. **16. Meyers S.A.**, 2006 – Reprod. Fertil. Dev. 18, 1-5. **17. Nebel R.L., Bame J.H., Saacke R.G., Lim F.**, 1985 – J. Anim. Sci. 60, 1631-1639. **18. Niemann H., Rath D., Wrenzycki C.**, 2003 – Reprod. Domest. Anim. 38, 82-89. **19. Park K.W., Cheong H.T., Lai L., Im G.S., Kuhholzer B., Bonk A.**, 2001 – Anim. Biotechnol. 12, 173-181. **20. Roca J., Vazquez J.M., Gil M.A., Cuello C., Parilla I., Martinez E.A.**, 2006 – Reprod. Domest. Anim. 41 (Suppl. 2), 43-53. **21. Saeki K., Matsumoto K., Kinoshita M., Suzuki I., Tasaka Y., Kano K., Taguchi Y., Mikami K., Hirabayashi M., Kashiwazaki N., Hosoi Y., Murata N., Iritani A.**, 2004 – Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101, 6361-6366. **22. Vazquez J.M., Parrilla I., Roca J., Gil M.A., Cuello C., Vazquez J.L., Martínez E.A.**, 2009 – Theriogenology 71, 80-88. **23. Vazquez J.M., Roca J., Gil M.A., Cuello C., Parilla I., Vazquez J.L., Martinez E.A.**, 2008 – Theriogenology 70, 1216-1240. **24. Vigo D., Faustini M., Torre M.L., Pecile A., Villani S., Asti A., Norbert R., Maggi L., Conte U., Cremonesi F., Stacchezzini S., Maffeo G.**, 2002 – Reprod. Fertil. Dev. 14, 307-314. **25. Wieczorek J., Kosenyuk Y., Grad I., Cegła M.**, 2012 – Przegląd Hod. 7-9, 24-26.

Nowe związki osłaniające i antyoksydanty w kriokonserwacji nasienia knura – wstępne wyniki badań

Monika Trzcińska, Magdalena Bryła

Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy w Balicach k. Krakowa

Metodą biotechnologiczną, która pozwoliła lepiej wykorzystać potencjał rozrodczy samców jest sztuczne unasienianie. Jest coraz szerzej stosowaną metodą rozrodu w hodowli świń, przyspiesza bowiem postęp genetyczny, zwiększa wykorzystanie wartościowych samców, obniża koszty utrzymania rozpłodników w przeliczeniu na jedno prosię. Do inseminacji używane jest głównie nasienie konserwowane w stanie płynnym, co umożliwia, w zależności od rodzaju stosowanego rozcieńczalnika, stopnia rozrzedzenia i warunków przechowywania, zachowanie jego przydatności przez okres kilku dni.

Pomimo prowadzenia intensywnych badań nad opracowaniem skutecznej metody kriokonserwacji, użycie mrożonego nasienia knura w praktyce jest bardzo ograniczone i kształtuje się na poziomie poniżej 1% ogólnej liczby wykonywanych zabiegów inseminacyjnych. Przy stosowaniu mrożonego nasienia knura w praktyce inseminacyjnej obserwuje się o 20% niższe wskaźniki rozrodcze w stosunku do nasienia konserwowanego w stanie płynnym oraz wskaźnik oproszeń mniejszy o 1-2 prosięta w miocie. Istotnym problemem w kriokonserwacji jest również zróżnicowana indywidualna podatność nasienia knurów na proces zamrażania-rozmrażania. Oprócz zmienności osobniczej pomiędzy poszczególnymi samcami, wykazano również różnice w zamrażalności między ejakulatami od tego samego osobnika. Aktualnie prowadzone badania mają na celu uzyskanie stałego wskaźnika płodności na poziomie 65-75%, przy użyciu nasienia większości knurów, przy liczbie plemników w dawce inseminacyjnej nie większej niż 3 miliardy plemników. Niskie wskaźniki rozrodu uzyskiwane po inseminacji loch nasieniem mrożonym wynikają głównie z faktu, iż błona komórkowa plemników knura charakteryzuje się dużą podatnością na uszkodzenia kriogeniczne [9].

Plemniki knura są bardziej wrażliwe na czynniki związane z zamrażaniem niż plemniki innych zwierząt gospodarskich. Stres osmotyczny, szok chłodowy oraz tworzenie się wewnątrz komórek kryształków lodu powodują uszkodzenia błon plazmatycznych i innych organelli komórkowych plemników knura. Przypuszcza się, że istotnym czynnikiem powodującym zwiększoną wrażliwość plemników na zamrażanie jest wysoki udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w lipidach i ich specyficzny skład. W składzie lipidów plemników knura wielonienasycone kwasy tłuszczowe (C22:5 i C22:6) stanowią około 65% całkowitej zawartości wszystkich kwasów tłuszczowych. Stosunek ilościowy kwasów tłuszczowych nienasyconych do nasyconych w plemniach knura wynosi 3,5 (u buhaja i tryka 2,8). Wysoki udział kwasów nienasyconych stanowi zagrożenie dla struktury błon plazmatycznych plemników, z powodu podatności tych kwasów na procesy peroksydacji. W wyniku nadmiaru reaktywnych form tlenu (RTF) lub wyczerpania możliwości kompensacyjnych układu antyoksydacyjnego w nasieniu, dochodzi do stresu oksydacyjnego [2]. Długotrwała ekspozycja plemników na RTF jest przyczyną zmian peroksydacyjnych w lipidach błon komórkowych plemników oraz ma niekorzystny wpływ na strukturę błon komórkowych, jak również zwiększa poziom fragmentacji DNA [6]. Proces ten może być redukowany w obecności antyoksydantów. W warunkach fizjologicznych złożony system antyoksyda-