

*„dzisiaj płodzi jedno w drugim, to, co męskie, w pierwiastku niewieścim,
a to na to, żeby w uściskach nowe życie stwarzali”*

(Platon, Uczta)

MACIEJ MAŁECKI i GRAŻYNA NIEWIADOMSKA

Zakład Neurofizjologii, Instytut Biologii Doświadczalnej PAN

Pasteura 3, 02-093 Warszawa

E-mail: gwn@ameba.nencki.gov.pl

CZY MOŻEMY WPŁYWAĆ NA PŁEĆ POTOMSTWA?

Odkąd człowiek zaistniał na świecie zawsze dążył do odkrycia biologii życia. Jego intelektualne zmagania miały na celu poznanie i zrozumienie tych zjawisk. Zaspokojenie wiedzy często wiązało się z pragnieniem ulepszenia i napinania natury do własnych potrzeb. Również myśl o możliwości kierowania płcią potomstwa nurtowała człowieka. Świadczą o tym stare zapisy na papirusach egipskich i w chińskich rękopisach sprzed wielu tysięcy lat. W tamtych czasach, a nawet i nie tak odległych, były to względy socjologiczne i zwyczajowe, związane na przykład z przyjętymi zasadami dziedziczenia majątku i władzy. Obecnie jednym z najważniejszych powodów wybierania płci potomstwa jest możliwość uniknięcia chorób genetycznych związanych z chromosomami płci. Potencjalne możliwości wyboru płci były i są bodźcem do badań dla wielu naukowców.

Spełnianie swego życia, swej płciowości nie było i nie jest interpretowane przez ludzi jednako, tak jak nie ma jednoznacznej definicji pojęcia płci. Człowiek wyróżnia postaci męskie i żeńskie, określa płęć wykorzystując wiele prawideł. Odrębność płciowa zwierząt wydaje mu się zrozumiała, ponieważ i on sam w sensie płciowości ma status dychotomiczny (tab.1). Istnieje wiele kryteriów, które pozwalają definiować płęć. Obecność różnych zestawów chro-

Tabela 1. Kobieta, mężczyzna: różnice

	Kobieta	Mężczyzna
Kariotyp	46 XX	46, XY
Komórki płciowe	komórki jajowe	plemnik
Gonady	jajniki	jądra
Gruczoł sutkowy	rozwinięty	nierozwinięty
Płęć metrykalna	żeńską	męską

mosomów płciowych u osobników męskich i żeńskich determinuje płęć chromosomową, zaś rozwój pierwotnej gonady wyznacza płęć gonadalną. Płęć ujawnia się również przez odpowiednią charakterystykę ekspresji wewnętrznych i zewnętrznych narządów płciowych oraz przez poziom hormonów steroidowych. U człowieka warto również wspomnieć o płci psychicznej wynikającej z przynależności płciowej i orientacji psychoseksualnej.

U kręgowców w pełni wyrażony i stabilny dymorfizm płciowy, definiowany zarówno na poziomie genetycznym, jak i behawioralnym obserwuje się u ssaków. U większości ryb i gadów brak jest chromosomów płciowych, a o płci tych zwierząt decydują w znacznym stopniu czynniki inne niż genetyczne. Wielką rolę odgrywają tu warunki środowiska, w którym organizm przebywa. Mówi się więc o termicznej (zależnej od temperatury), bądź o behawioralnej (zależnej od warunków socjalnych) determinacji płci. Wpływ temperatury na płęć spotyka się u wielu krokodyli, licznych żółwi i jaszczurek (JOHNSTON i współaut. 1995). U gekona niskie i wysokie temperatury inkubacji prowadzą do powstania samic, zaś w temperaturach średnich różnicują się samce. Istnieją gatunki ryb, których płęć jest zależna od behawioru tak dalece, iż mogą one w ciągu kilku minut zmieniać swoją płęć z męskiej na żeńską. W zależności od struktury socjalnej i liczby osobników towarzyszących ryba może uwalniać ikrę, bądź mlecz, czyli może egzystować jako samica lub samiec.

Natomiast u wyższych kręgowców i u człowieka na podstawie szeregu różnic anatomicznych, biochemicznych oraz behawioralnych można mówić o osobnikach męskich i żeńskich. Definiując płęć na podstawie aktywności kopu-

lacyjnych określa się osobniki wyposażone w jądra, dążące do zaplemnienia jako samce, zaś osobniki z jajnikami, łatwo poddające się zaplemnieniu jako samice. Działania specyficzne dla płci mają związek z różnym dla samic i samców zespołem chromosomów odziedziczonych po rodzicach w momencie poczęcia, różną aktywnością endokrynną, a także, co stwierdzono niedawno, odmienną budową mózgu. Zachowanie niektórych małych ptaków śpiewających, na przykład kanarków, wydaje się być idealnym dowodem istotności dwu ostatnich czynników w determinacji płci.

Wiosenny śpiew ptaków, służący do wyznaczenia terytorium rozrodczego i przywabiania samic jest skorelowany z poziomem androgenów u samców. Wysoka aktywność endokrynną u osobnika warunkuje doniosły śpiew. Śpiew ptaków jest kontrolowany przez układ struktur w przedniej części mózgu nazywanych jądrami kontroli pieśni (ang. song control nuclei). Należą do nich jądro Hvc (łac. hyperstriatum ventrale) oraz jądro IMAN (ang. magnocellular anterior neostriatum) i RA (łac. nucleus robustus archistriatis). Wszystkie trzy struktury inicjują sygnały nerwowe związane z uczeniem się śpiewu i wykonywaniem pieśni. Jak wynika z doświadczeń, uszkodzenie tych struktur u osobników młodych powoduje niezdolność wyuczenia się wzoru pieśni specyficznej dla danego

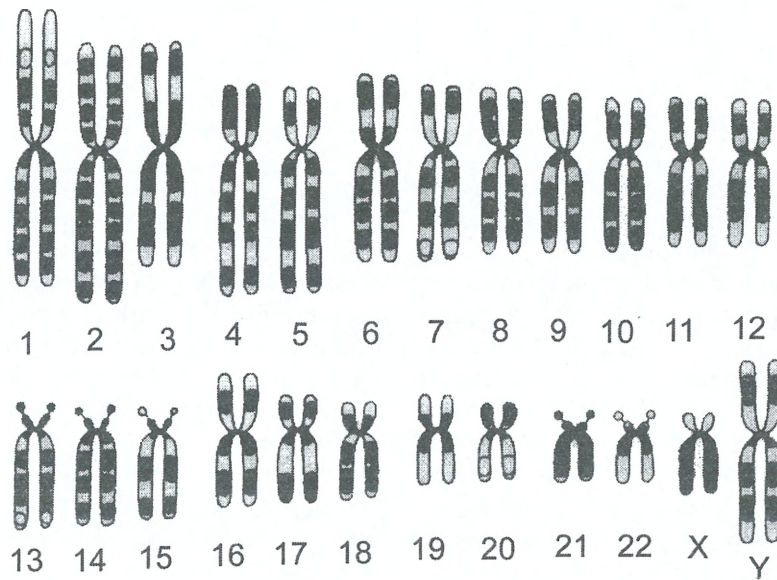
gatunku, a u dorosłych osobników zaburzenia struktury pieśni (KONISHI 1984). Jądra kontroli pieśni są szczególnie dobrze rozwinięte właśnie u ptaków śpiewających, ale tylko u tych osobników, które uczą się śpiewu, to znaczy u samców. U samic obszary zawiadujące śpiewaniem są zwykle znacznie mniejsze. Wykazano również, iż wielkość tych struktur zmienia się okresowo i jest ściśle skorelowana z cyklem godowym (ALVAREZ-BUYLLA i współaut. 1994, SMITH i współaut. 1997). U kanarka poznano dość dobrze neurobiologiczne i endokrynologiczne korelaty tej plastyczności. W jądrach uczestniczących w kontroli pieśni stwierdzono występowanie rocznego cyklu rozrostu dendrytów a następnie ich wycofywanie. Cykl ten skorelowany jest ponadto ze zmianami poziomu testosteronu we krwi krążącej. Sądzi się, że testosteron działa bezpośrednio na jądra kontroli pieśni indukując rozrost somatyczny i dendrytyczny ich neuronów (NOTTEBOHM 1981, BRENOWITZ i współaut. 1996).

Wydaje się, że w świecie zwierząt wyraźny dychotomizm płciowy nie jest pierwotną i stabilną cechą. Determinacja płci zależy od bardzo wielu czynników, poprzez regulację których możemy wpływać na to, czy po zapłodnieniu zarodek rozwinię się w osobnika płci męskiej czy żeńskiej.

W WYNIKU ZAPŁODNIENIA POWSTAJE ZYGOTA

U człowieka płeć zostaje zdeterminowana w momencie połączenia się komórki płciowej męskiej i żeńskiej. Proces ten definiuje się jako zapłodnienie. Jest ono poprzedzone zaplemnieniem, w czasie którego dochodzi do zbliżenia gamet. Zaplemnienie może być naturalne bądź sztuczne, wewnętrzne lub zewnętrzne. U człowieka zaplemnienie naturalne, wewnętrzne zachodzi w trakcie aktu płciowego. Plemniki zawarte w ejakulacie (około 200–300 mln) zostają złożone w sklepieniu pochwy, blisko ujścia zewnętrznego kanału szyjki macicy. Człowiek zaliczany jest do gatunków monospermicznych — tylko jeden plemnik wnika do komórki jajowej. Polispermia jest natomiast proces, w przebiegu którego do komórki jajowej wnika wiele plemników, ale zawsze tylko jeden jest plemnikiem zapładniającym, pozostałe zaś obumierają. Z chwilą wnikięcia pierwszego plemnika do komórki jajowej jej błona cytoplazmatyczna staje

się nieprzepuszczalna dla kolejnych plemników. Zjawisko to nazwano blokiem przeciw polispermii na poziomie błony komórkowej. Miejscem zapłodnienia jest najczęściej najszersza część bańki jajowodu lub jedna trzecia dalszej części jajowodu. Zapłodnienie jest złożonym, wieloetapowym procesem. Rozpoczyna się ono w momencie zbliżenia się plemnika do komórki jajowej, a kończy się połączeniem komórek i wymieszanym chromosomów — matczyńskich i ojcowskich. Niesiona przez nie informacja genetyczna matki i ojca w akcie zapłodnienia łączy się; powstaje zapłodnione jajo, czyli zygota. Z niej rozwija się zarodek, a z niego płód. Rodzice przekazują potomstwu materiał genetyczny w formie struktur zwanych chromosomami. Cały DNA w jądrze komórki diploidalnej człowieka jest podzielony na 46 różnej długości fragmentów, które odpowiadają chromosomom (ryc. 1).



Ryc. 1. Chromosomy człowieka — 22 autosomy (na rysunku przedstawiono po jednym chromosomie z pary) i chromosomy płciowe X, Y.

PLĘĆ JEST CECHĄ DETERMINOWANĄ GENETYCZNIE

Chromosomy nie stanowią grupy jednolitych struktur. Różnią się one wielkością, kształtem, a co najważniejsze zawartą w ich DNA informacją, czyli składem genów. Chromatyna, którą definiuje się jako interfazową postać chromosomów mitotycznych lub mejoetycznych jest strukturą wysoce skondensowaną. Wyróżnia się pięć poziomów uorganizowania włókna chromatynowego. Są to: heliks DNA, włókno solenoidowe, chromatyna interfazowa oraz chromosom metafazowy. Współczynnik upakowania w chromosomie metafazowym wynosi około 10 000. Wszystkie chromosomy jednej komórki człowieka zawierają $5,3 \times 10^9$ par nukleotydów. Wysoki stopień upakowania obrazuje dobrze fakt, iż długość wszystkich skondensowanych chromosomów metafazowych łącznie wynosi około 200 μm , przy czym zawierają one DNA, którego nić po rozwinięciu mierzyłaby około 1,8 m.

W budowie chromosomu metafazowego na uwagę zasługują dwa przewężenia: pierwotne oraz wtórne. Przewężenie pierwotne — centromer jest miejscem, do którego przymocowane są włókna wrzeciona podziałowego, zaś przewężenie wtórne zawiera geny rDNA, czyli DNA z informacją dla syntezy rybosomowych RNA — rRNA. Region ten definiuje się jako organizator jąderkowy (NOR, ang. nucleolar organizer). Przewężenia wtórne mogą być czasami umiesz-

czony terminalnie i odcinają wówczas od ramienia chromosomu drobną jego część w postaci małego fragmentu o nazwie satelita lub trabant. Położenie przewężenia pierwotnego pozwala wyróżnić kilka typów chromosomów metafazowych. Lokalizacja tego przewężenia decyduje o długości ramion chromosomowych. W prawidłowym garniturze chromosomowym człowieka wyróżnić można kształty metacentryczne (z ramionami równymi, o kształcie litery V), submetacentryczne (z ramionami nierównymi, przypominającymi literę L) i akrocentryczne (z jednym ramieniem bardzo krótkim lub prawie niezauważalnym).

Bezpośredni wpływ na determinację płci mają chromosomy oznaczane symbolami X i Y, nazywane płciowymi (McELREAVEY i współaut. 1995). Chromosom X zalicza się do chromosomów submetacentrycznych, zaś chromosom Y uważa się za akrocentryczny. Zdrowa kobieta ma dwa chromosomy X, natomiast zdrowy mężczyzna ma jeden chromosom X i jeden chromosom Y. Karyotyp kobiety zapisuje się w postaci 46, XX, zaś mężczyzny jako 46, XY. U samicy ssaków w każdej komórce dochodzi do inaktywacji jednego z dwu chromosomów X. Proces ten przebiega w sposób losowy. W jednych komórkach inaktywacji ulega chromosom pochodzenia matczynego — X_{mat} (łac. maternal), w innych chromosom pochodzenia ojcowskiego —

Xpat (łac. paternal). W ten sposób w ustroju żeńskim powstaje swoista mozaika złożona z komórek Xmat i Xpat. Inaktywacja polegająca głównie na metylacji DNA chromosomu X po-

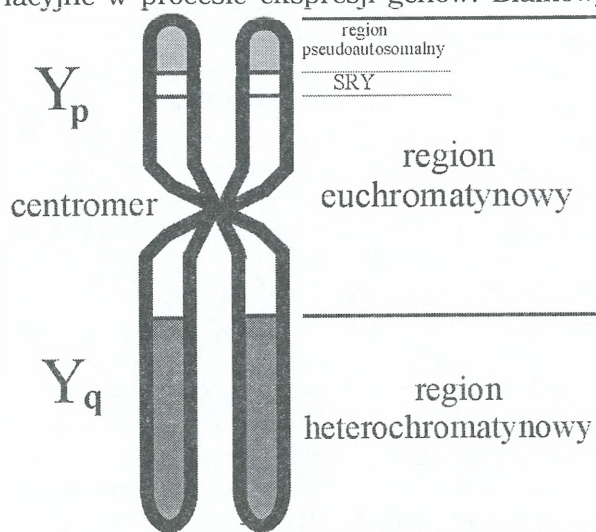
woduje, że ekspresja genów sprzężonych z tym chromosomem u osobnika płci żeńskiej i męskiej jest jednakowa mimo różnej liczby tych chromosomów.

DECYDUJĄCĄ ROLE W DETERMINACJI PŁCI U SSAKÓW ODGRYWA MĘSKI CHROMOSOM Y

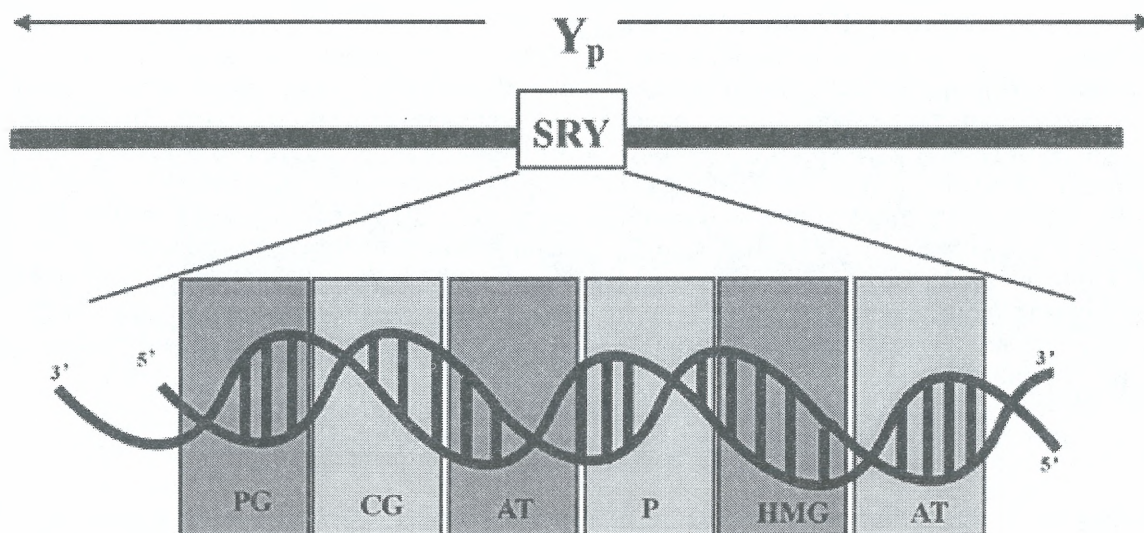
Gdybyśmy w przyszłości chcieli mieć możliwość wyboru płci potomstwa to naszą uwagę powinniśmy skupić na chromosomie Y. Chromosom Y jest małym, akrocentrycznym chromosomem podobnym do autosomów z grupy 21–22. Należy on do najmniejszych chromosomów w ludzkim kariotypie. Jego DNA stanowi około 2% całkowitej długości haploidalnego genomu i zawiera 4–6 x 10⁷ par zasad. Ze względu na podobieństwo do chromosomów grupy 21–22 przy układaniu kariotypu umieszcza się go obok chromosomów tej grupy. Istnieje jednak wiele morfologicznych cech, które odróżniają chromosom Y od wyżej wymienionych autosomów. Chromosom Y jest zwykle dłuższy niż chromosomy z grupy 21–22, chociaż jego krótkie ramiona nie posiadają przewężeń i są zwykle krótsze. Natomiast ramiona długie mają charakterystyczne ułożenie równoległe, w odróżnieniu od chromosomów z grupy 21–22, których ramiona długie są rozsunięte pod kątem. Centromer chromosomu Y nie jest tak wyraźnie zaznaczony jak w chromosomach z grupy 21–22. Pozbawiony jest również satelitów. Dystalna część jego ramion długich wykazuje wyraźną fluorescencję w badaniu pod mikroskopem fluorescencyjnym. Pod względem cytologicznym przyjęło się dzielić chromosom Y na region heterochromatynowy (część ramienia długiego) oraz na region euchromatynowy (całe ramię krótkie, centromer i część ramienia długiego) (ryc. 2).

Pierwotna, niezróżnicowana gonada składająca się z części korowej oraz z części rdzennej w prawidłowych warunkach może rozwijać się dwojako. W przypadku zarodków XX część korowa różnicuje się w jajnik, a część rdzenna zanika. Odwrotne zmiany zachodzą u zarodków XY — część rdzenna przekształca się w jądro, a część korowa zanika. Sygnałem do różnicowania się pierwotnej gonady w jądra jest ekspresja genów niesionych przez chromosom Y. Zidentyfikowano region chromosomu Y, który warunkuje ten proces i oznaczono jako SRY (ang. sex determining region Y; ryc. 3) (KOOPMAN 1995). Gen SRY (długości około 30 kb) koduje czynnik determinujący wykształcanie się jąder u człowieka — TDF (ang. testis determining factor) (BERTA i współaut. 1990, JAGER i współaut 1990). U człowieka gen SRY mieści się w krót-

kim ramieniu chromosomu Y, w pobliżu regionu pseudoautosomalnego (MICHALCZAK-JANITZ i współaut. 1995). W lokalizacji genu SRY pomocne okazały się przypadki pacjentów z aberracjami liczby i struktury chromosomów płci, a także zwierzęta transgeniczne (myszy płci żeńskiej z genem SRY wbudowanym do chromosomu X) (KOOPMAN i współaut. 1991). Gen SRY koduje białko zbudowane z 204 aminokwasów i o masie cząsteczkowej 23,9 kDa (SINCLAIR i współaut. 1990). Wartym podkreślenia jest fakt, iż białkowy produkt genu SRY wykazuje ścisłe pokrewieństwo z czynnikami transkrypcyjnymi, na przykład z czynnikiem transkrypcyjnym występującym w limfocytach T — TCF -1 (ang. T lymphocytespecific transcription factor), z LEF-1 (ang. lymphoid-specific enhancer factor). W białku kodowanym przez SRY wyróżnia się 80 aminokwasową sekwencję homologiczną z sekwencją białek niehistonowych o wysokiej ruchliwości elektroforetycznej w żelu poliakrylamidowym — HMG 1 i HMG 2 (ang. high mobility group). Analiza sekwencji aminokwasowej sugeruje, iż są to białka ewolucyjnie konserwatywne i mają kilka funkcjonalnych domen. Uważa się, że białka HMG mają zdolność wiązania się z aktywną transkrypcyjnie chromatyną przez co mogą pełnić funkcje regulacyjne w procesie ekspresji genów. Białkowy



Ryc. 2. Chromosom Y w stadium metafazy. Y_p — ramię krótkie chromosomu Y; Y_q — ramię długie chromosomu Y; SRY — region chromosomu Y determinujący płć u człowieka.



Ryc. 3. Struktura genu SRY.

Y_p — ramię krótkie chromosomu Y; PG — pseudogen genu SRY; CG — region bogaty w pary CG; AT — region bogaty w pary AT; P — region promotorowy; HMG — konserwatywny region chromosomu Y, wykazujący homologię z sekwencją zasad dla białek o wysokiej ruchliwości elektroforetycznej (HMG).

produkt genu SRY jest zaliczany do tej samej klasy co białka HMG i podobnie jak one uczestniczy w regulacji ekspresji genów na poziomie transkrypcji (SINCLAIR i współaut. 1990, RIMINI i współaut. 1995, VRIZ i współaut. 1995). Stwierdzono, iż może on specyficznie aktywować gen MIS (ang. Müllerian inhibiting substance) (HAGG i współaut. 1994). Gen ten koduje czynnik, który hamuje rozwój embrionalnych struktur typowych dla rozwijającego się zarodka żeńskiego (BEHRINGER 1995). W strukturze genu SRY wyróżniono również region promotorowy, regiony bogate w pary AT oraz w pary CG (ryc. 3). W pobliżu końca 5 znajduje się motyw TATAAA zgodny z motywem TATA wiążącym czynnik transkrypcyjny TFIID. W regionie tym jest również obecny motyw GGGGACTTTC homologiczny z sekwencją wzmacniacza (ang. enhancer) B promotorów genów kodujących informację dotyczącą cząsteczek immunoglobulin — łańcuchów ciężkich oraz łańcuchów lekkich, jak również promotora genu kodującego łańcuch receptora interleukiny 2 (AFFARA i współaut. 1996). U człowieka kodowany przez gen SRY czynnik TDF pojawia się na przełomie szóstego i siódmego tygodnia życia zarodka o kariotypie męskim XY. Po jego zadziałaniu pierwotna gonada różnicuje się w jądro. W przypadku zarodka o kariotypie żeńskim XX, w którym TDF nie występuje gonada rozwija się w jajnik.

W przeciwieństwie do 22 par autosomów, chromosomy płci cechują się brakiem jednoznaczności podobieństwa struktury między obydwoma chromosomami pary XY na prawie całej ich długości. Wymiana materiału genetycznego

na drodze crossing over w tych chromosomach jest ograniczona wyłącznie do niewielkich ich fragmentów, do tych które zachowują homologię. Noszą one nazwę regionów pseudoautosomalnych. Każdy z nich ma długość około $2,5 \times 10^6$ par zasad. Niekiedy w wyniku nieprawidłowego podziału mejozy — wadliwego crossing over w obrębie regionu pseudoautosomalnego sąsiadującego z genem SRY — dochodzi może do tak zwanego odwrócenia płci. Przeniesiony na chromosom X gen SRY sprawia, iż w wyniku zapłodnienia komórki jajowej przez plemnik z chromosomem X, posiadającym ten gen, powstaje osobnik płci męskiej. Natomiast w wyniku zapłodnienia komórki jajowej plemnikiem z chromosomem Y, ale pozbawionym SRY, powstaje osobnik płci żeńskiej. To nieprawidłowe przegrupowanie DNA jest przyczyną niezgodności płci genetycznej z płcią fenotypową. Mężczyźni posiadają wówczas kariotyp 46, XX, zaś kobiety 46, XY. Zjawisko to można zdiagnozować już w czasie rozwoju płodowego. Za pomocą amniocentezy stwierdza się wówczas żeński kariotyp płodu, zaś po urodzeniu noworodek wykazuje cechy fenotypowe męskie (REDDY i współaut. 1997). Przy rozpatrywaniu genetycznej determinacji płci koniecznym jest również zwrócenie uwagi nie tylko na wspomniane chromosomy płciowe, lecz i na pozostałe 44 chromosomy autosomalne. Gen SRY bowiem pełni swą funkcję przede wszystkim we wstępnym etapie różnicowania jąder. Wyznacza on proces różnicowania pierwotnej linii komórek podporowych w komórki Sertoliego, charakterystyczne dla jąder, a nie w komórki

ziarniste jajników (LOVELL-BADGE i HACKER 1995). Dalszy rozwój organizmu męskiego wymaga jednak działania również wielu innych genów — występujących zarówno w chromosomie Y (gen PAR1; RAO i współaut. 1997), w chromosomie X (gen DAX-1; McELREAVEY i współaut. 1995)), jak i genów zlokalizowanych w autosomach (geny SF1, WT1, SOX i MIS; EICHER 1988, NAGAI 1996,). Geny te kierują różnicowaniem się narządów rozrodczych, a poprzez realizację fenotypu hormonów steroidowych wpływają na drugorzędowe i trzeciorzędowe

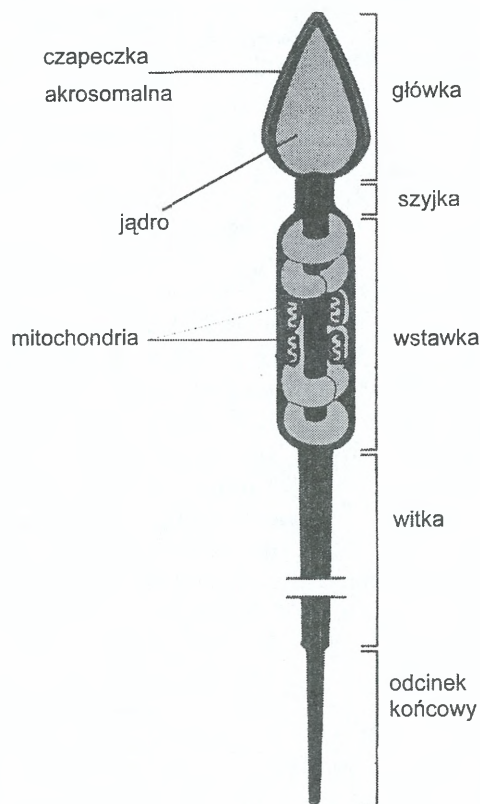
cechy płciowe. Zależność determinacji płci od genów zlokalizowanych w autosomach wiąże się przypuszczalnie z faktem, że chromosomy X i Y były pierwotnie także parą chromosomów autosomalnych (GRAVES 1995) i na drodze postępującej specjalizacji, wyrażonej gromadzeniem się w nich dużej ilości genów odpowiedzialnych za determinację płci stały się chromosomami płciowymi. Pozostałością po procesie specjalizacji są przypuszczalnie zachowane w obu chromosomach odcinki pseudoautosomalne (GRAVES 1995).

SPERMATOCYTY, SPERMATYDY, PLEMNIKI

Gametogeneza (z grec. gamete — żona; gametes — mąż) jest procesem powstawania oraz rozwoju populacji komórek, które określa się gametami lub komórkami rozrodczymi. Natomiast zmiany, którym podlegają komórki rozrodcze męskie, aby przekształcić się w dojrzały plemnik nazywa zaś spermatogenezą. Spermatogeneza obejmuje dwa procesy: spermatocytogenezę, w wyniku której dochodzi do zredukowania o połowę liczby chromosomów i powstania spermatydy, i spermiogenezę — w jej następstwie spermatyda przekształca się w plemnik. W cyklu spermatogenicznym wyróżnia się następujące postaci komórek: spermatogonie, spermatocyty I rzędu, spermatocyty II rzędu, spermatydy, plemniki.

Spermatogonie są komórkami kulistymi o średnicy 9–15 μm . Posiadają bogate w chromatinę duże jądro, niewielki rąbek cytoplazmy z pojedynczymi mitochondriami i innymi organelami komórkowymi. Spermatogonie dzielą się mitotycznie, a ich podział jest zsynchronizowany dzięki mostkom cytoplazmatycznym, które je łączą. Spermatocyty I rzędu są komórkami o dużym owalnym jądrze, bogate w organelle komórkowe. Ich średnica wynosi 25 μm . Spermatocyty I rzędu przystępują do podziału mejozy. Po pierwszym podziale redukcyjnym powstają dwa spermatocyty II rzędu, które są komórkami małymi, z haploidalną liczbą chromosomów. Posiadają one 23 chromosomy, przy czym 50% komórek zawiera chromosom X, a pozostałe 50% chromosom Y. Spermatocyty II rzędu przystępują bardzo szybko do drugiego podziału mejozy. Ostatecznie powstają cztery spermatydy. Komórki te nie podlegają już dalszym podziałom. W procesie spermiogenezy ilość cytoplazmy spermatydy ulega znacznej redukcji, część jest przez komórkę odrzucana, zaś pozostała pokrywa cienką osłonką jądro wraz z akrosomem i tworzy główkę plemnika. Formuje się plemnik!

Plemnik jest komórką małą, przystosowaną do poruszania się i wyszukiwania komórki jajowej. Jest on w całości otoczony błoną komórkową. Ma on długość 60 μm ; składa się z główki stanowiącej jądro komórki, z szyjki z centrosomami, z bogatej w mitochondria wstawki oraz z witki, która jest właściwym narzędziem ruchu (ryc. 4). Główka plemnika — długość około 4,5 μm , szerokość 2,5–3,5 μm — ma kształt kulisty lub owalny. Zawiera skondensowane, haploidalne jądro komórkowe. Na szczycie główki występuje czapeczkowaty twór — akrosom. Jest on zmodyfikowanym aparatem Golgiego, zawiera enzymy ułatwiające przebicie osłonki komórki



Ryc. 4. Schematyczna budowa plemnika.

ki jajowej: hialuronidazę, akrozyne i kwaśną fosfatazę. Szyjka plemnika jest zbudowana z dwóch centrioli oraz dziewięciu segmentowanych kolumn, które przechodzą dalej w dziewięć grubych włókien wstawki i witki. Wstawka ma długość 5–7 μm i 1 μm grubości. Jest ona odcinkiem zawartym między szyjką a pierścieniem dalszym. Stanowi ona swoiste centrum

energetyczne plemnika. Energia potrzebna do ruchu jest dostarczana z licznych mitochondriów tej właśnie okolicy. Najdłuższą częścią plemnika jest witka. Dzięki swoistym białkom kurczliwym, spermiozynie i flaktynie zapewnia ruch plemnika, decyduje również o właściwej orientacji plemnika przy zbliżeniu się do komórki jajowej.

PLEĆ NA ŻYCZENIE?

Różnicowanie płci jest złożonym procesem. Można tu mówić o genetycznej determinacji płci, o powstawaniu wewnętrznych i zewnętrznych narządów płciowych, a następnie o dojrzewaniu płciowym. Przypomnijmy, że komórki jajowe w wyniku fizjologicznej redukcji swego materiału genetycznego zawierają jeden chromosom X i autosomy, natomiast każdy mężczyzna wytwarza dwa rodzaje plemników. Jeden z nich zawiera chromosom X i autosomy, drugi zaś posiada chromosom Y i również autosomy. Płeć u człowieka zostaje zdeterminowana w czasie zapłodnienia. Jeżeli jajo zostanie zapłodnione plemnikiem z chromosomem X rozwija się wówczas zygota płci żeńskiej (XX). Zapłodnienie plemnikiem z chromosomem Y daje początek płci męskiej (XY).

Występujące w prawidłowym nasieniu męczyzny plemniki wyposażone w chromosom X oraz plemniki z chromosomem Y różnią się morfologicznie. Różnice te dotyczą przede wszystkim budowy ich główek. W zależności od obecności chromosomu X lub Y główka plemnika przyjmuje charakterystycznie odmienny kształt. Jedne z nich są okrągłe, nieco mniejsze i o jednorodnej strukturze — to plemniki z chromosomem Y. Drugie zaś są większe, cięższe, mają kształt owalny — to plemniki z chromosomem X (RUCKI 1964, CUI 1997). Różnice między plemnikami to nie tylko odmienna morfologia ich główek, ale także odmienny skład chromosomalny, różna aktywność i ruchliwość, różny ładunek elektryczny na powierzchni (SINGER i współaut. 1995). Plemniki, komórki przystosowane do poruszania się, do wyszukiwania komórki jajowej i wprowadzania do niej sygnału rozwojowego oraz cech dziedzicznych, charakteryzują się różną prędkością poruszania. W jajowodzie poruszają się one w kierunku przeciwnym aniżeli synchroniczny ruch rzęsek komórek nabłonka tego narządu. Plemniki poruszają się ruchem wężowym i obrotowym po torze prostym, ze średnią prędkością około 100 $\mu\text{m}/\text{s}$. Ze względu na niewielką ilość związków energetycznych, jakimi dysponuje plemnik, tylko część z nich dociera do jajowodu. Stwierdzono,

że plemniki z chromosomem Y wykazują znacznie wyższe prędkości poruszania się niż plemniki z chromosomem X. Wykorzystując te różnice możemy oddzielać plemniki z chromosomem Y, gwarantujące płeć męską od plemników z chromosomem X, determinujące płeć żeńską. Również zastosowanie metod z użyciem markerów fluorescencyjnych, wykorzystanie cytometrii przepływowej, techniki PCR (ang. polymerase chain reaction), czy techniki FISH (ang. fluorescence *in-situ* hybridization) (RICHARDS i współaut. 1997) pozwala sortować plemniki X i Y oraz mapować ich układ genów (FLAHERTY i MATTHEWS 1996). Stwierdzono, iż różnica zawartości DNA w plemnikach z chromosomem X i Y wynosi w przybliżeniu 2,8% (CRAN i JOHNSON 1996). Możemy zatem bez trudu identyfikować i rozdzielać plemniki z chromosomem X i Y. Tym samym możliwość manipulowania płcią staje się realna, w czym przydatne mogą być dobrze rozwinięte obecnie techniki zapłodnienia *in vitro*.

Badania nad możliwością wyboru płci są prowadzone też w innym kierunku. Bardzo istotnymi wydają się być próby związane ze sprawdzeniem, jakie środowisko stwarza organizm kobiety dla plemnika. Okazuje się bowiem, że mikrośrodowisko dróg rodnych kobiety może ułatwiać zapłodnienie jednemu z rodzajów plemników określających płeć. Odbywa się to poprzez cykliczne zmiany właściwości środowiska pochwy i szyjki macicy. Płeć potomstwa wyznacza również określone pH i lepkość śluzu szyjkowego. Czynniki te zmieniają się cyklicznie pod wpływem hormonów jajnikowych. Środowisko zasadowe ma sprzyjać plemnikom odpowiedzialnym za rozwój płci męskiej. W środowisku kwaśnym natomiast plemniki z chromosomem Y łatwiej giną niż większe od nich plemniki z chromosomem X. Przepłukiwania pochwy przed stosunkiem płciowym płynami zasadowymi, aby urodzić syna, były swego czasu popularną metodą w próbach kontrolowania płci potomstwa. Przy zwiększonym pH i mniejszej lepkości śluzu, co fizjologicznie występuje w okresie jajczkowania, łatwiej przedostają się

do dalszych odcinków dróg rodnych plemniki bardziej ruchliwe, czyli determinujące płć męską.

Wśród badaczy istnieje przekonanie, że na płć potomstwa może również wpływać wiek rodziców. I tak, młodzi ojcowie mają mieć w większości przypadków potomstwo płci męskiej, zaś starsze matki mają rodzić zwykle córki. Płć przyszłych latorośli to prawdopodobnie i sprawa diety rodziców. Odżywianie ubogie w białko może prowadzić do zubożenia zawartości hialuronidazy w nasieniu. Białko PH-20 obecne w błonie czapeczki akrosomalnej plemników i posiadające aktywność hialuronidazy rozkłada kwas hialuronowy zawarty w substancji międzykomórkowej wieńca promienistego, otaczającego komórkę jajową. Umożliwia to plemnikom przenikanie przez kilka pokładów ko-

mórek ziarnistych, które tworzą wieniec promienisty (LIN i współaut. 1994, MYLES i PRIMAKOFF 1997, SABEUR i współaut. 1997). Wspólnie z neuraminidazą i kwaśną fosfatazą, hialuronidaza trawi składniki osłony przejrzystej komórki jajowej. W osłonie tej tworzy się zagłębienie, zwane kanałem zapłodnienia, przez które przechodzi plemnik. W wyniku spadku aktywności hialuronidazy dochodzić może do zaburzeń prawidłowego przebiegu reakcji akrosomalnej prowadzącej do zapłodnienia (ABDUL-AZIZ i współaut. 1995). Niski poziom hialuronidazy może powodować, że komórka jajowa stwarza na swej powierzchni większy opór plemnikom z chromosomem X, niż z Y, co przypuszczalnie wiąże się z ich różnymi właściwościami fizjologicznymi. Według tej teorii sprzyjałoby to płci męskiej.

PODSUMOWANIE

Większość badań nad sposobami kontroli płci prowadzonych jest na materiale zwierzęcym. Idea świadomego wyboru płci u człowieka jest jednak tak pasjonująca, iż na pewno realizacja modelu ludzkiego jest kwestią udoskonalenia technik badawczych oraz metod postępowania klinicznego. Dynamiczny rozwój współczesnej genetyki urzeczywistnia myśl, iż świadomy wybór płci potomstwa jest sprawą niedalekiej przyszłości.

Autorzy, mając swój prywatny pogląd w tej sprawie nie czują się jednak upoważnieni do dyskusowania etycznej strony problemu świadomego sterowania płcią potomstwa. Niektórzy naukowcy, między innymi pionier w tej dziedzinie badań Robert Winston, uważają, że wybór płci dziecka przed zapłodnieniem nie jest w żaden sposób medycznie uzasadniony. Jednak na jeden aspekt tego zagadnienia warto chyba

zwrócić uwagę. Wśród kilku tysięcy chorób genetycznych jednogennych część sprzężona jest z chromosomem X, na przykład dystrofia mięśniowa Duchennea, hemofilie, czy zespół Lesch-Nyhana. Statystycznie choroby te występują niemal wyłącznie u osobników płci męskiej, co ma związek z faktem, że u chłopców obecny jest tylko pojedynczy chromosom X. Wybór płci dziecka na życzenie mógłby być uzasadniony w przypadku, gdy rodzice są nosicielami genetycznej choroby dziedziczonej przez męskich potomków. Urodzenie dziewczynki dałoby im pewność i radość wychowywania normalnego, zdrowego dziecka. Wybór płci przyszłego potomstwa jeszcze przed poczęciem jest kolejnym przykładem zderzenia etyki z biologią. Rozstrzygnięcie tego problemu wymaga surowej i starannej jego oceny w kategoriach moralnych, medycznych i prawnych.

COULD WE INFLUENCE HUMAN SEX?

Summary

In this article we have attempted to explain some aspects of human sex determination. During embryogenesis the primary decision about male or female sexual development depends on the presence or absence of the Y chromosome, more specifically on a sex determining gene — SRY encoding a testis determining factor — TDF. The SRY locus is present in the short arm of the Y chromosome. TDF

is responsible for initiating male sex determination. The male gametogenic cells have a critical influence on sex determination. The morphological and cell separation methods, flow cytometry and measurements of the DNA content of human X and Y spermatozoa have confirmed the differences between these cells. This fact might be useful and pivotal for the possibility of choice of human sex.

LITERATURA

ABDUL-AZIZ M., MACLUSKY N.J., BHAVNANI B.R., CASPER R.F. 1995. *Hyaluronidase activity in human semen: correlation with fertilization in vitro*. *Ferti. Steril.* 64, 1147-1153.

AFFARA N., BISHOP C., BROWN W., COOKE H., DEVEY P., ELLIS N., GRAVES J. M., JONES M., MITCHELL M., RAPPOLD G., TYLER-SMITH C., YEN P., LAU Y. F. 1996. *Report of the second international workshop on Y chromosome mapping 1995*. *Cytogenet.-Cell-Genet.* 73, 33-76.

- ALVAREZ-BUYLLA A., LING C.Y., YU W.S. 1994. Contribution of neurons born during embryonic, juvenile, and adult life to the brain of adult canaries: regional specificity and delayed birth of neurons in the song-control nuclei. *J.Comp. Neurol.* 347, 233-248.
- BEHRINGER R. R. 1995. The mullerian inhibitor and mammalian sexual development. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 350, 285-288.
- BERTA P., HAWKINS J. R., SINDAIR A. H., TAYLOR A., GRIFFITS L., GOODFELLOW P. W., FELLUS M. 1990. Genetic evidence equating SRY and the testis-determining factor. *Nature* 348, 452-454.
- BRENOWITZ E.A., ARNOLD A.P., LOESCHE P. 1996. Steroid accumulation in song nuclei of a sexually dimorphic duetting bird, the rufous and white wren. *J. Neurobiol.* 31, 235-244.
- CRAN D. G., JOHNSON L. A., 1996. The predetermination of embryonic sex using flow cytometrically separated and Y spermatozoa. *Hum. Reprod. Update* 2, 355-363.
- CUI K. H. 1997. Size differences between human X and Y spermatozoa and prefertilization diagnosis. *Mol. Hum. Reprod* 3, 61-67.
- EICHER E. M. 1988. Autosomal genes involved in mammalian primary sex determination. [W:] *Sex Determination In Mouse and Man.* McLAREN A., FERGUSON-SMITH M. A. (red), The Royal Society, London, 1988.
- FLAHERTY S. P., MATTHEWS C. D. 1996. Application of modern molecular techniques to evaluate sperm sex selection methods. *Mol. Hum. Reprod.* 2, 93-942.
- GRAVES J. A. 1995a. The origin and function of mammalian Y chromosome and Y-borne genes - evolving understanding. *Bioassays* 17, 311-320.
- GRAVES J. A. 1995. The evolution of mammalian sex chromosomes and the origin of sex determining genes. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 350, 305-311.
- HAGG CH. M., KING CHIH-YEN, UKIYAMA E., FALSAFI S., HAGG T. N., DAHAHOE P. K., WEISS M. A. 1994. Molecular basis of mammalian sexual determination: Activation of mullerian inhibiting substance gene expression by SRY. *Science* 266, 1494-1500.
- JAGER R. J., ANVRET M., HALL K., SCHERER G. 1990. A human XY female with a frame shift mutation in the candidate testis-determining gene SRY. *Nature* 348, 452-454.
- JOHNSTON C. M., BARNET M., SHARPE P. T. 1995. The molecular biology of temperature-dependent sex determination. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 350, 297-303.
- KONISHI M. 1984. A logical basis for single-neuron study of learning in complex neural systems. [W:] *The biology of learning.* Dahlem Konferenzen. MARLER P., TERRACE H.S. (red.), Springer-Verlag, Berlin, pp.311-324.
- KOOPMAN P. 1995. The molecular biology of SRY and its role in sex determination in mammals. *Reprod. Fertil. Dev.* 7, 713-722.
- KOOPMAN P., GUBBAY J., VIVIAN N., DOODFELLOW P., LOVELL-BADGE R. 1991. Male development of chromosomally female mice transgenic for SRY. *Nature* 351, 117-121.
- LIN Y., MAHAN K., LATHROP W. F., MYLES D. G., PRIMAKOFF P. 1994. A hyaluronidase activity of the sperm plasma membrane protein PH-20 enable sperm to penetrate the cumulus cell layer surrounding the egg. *J. Cell Biol.* 125, 1157-1163.
- LOVELL-BADGE R., HACKER A. 1995. The molecular genetics of SRY and its role in mammalian sex determination. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 350, 205-214.
- MCLEAVEY K., BARBAUX S., JON A., FELLOUS M. 1995. The genetic basis of murine and human sex determination: a review. *Heredity* 75, 599-611.
- MICHALCZAK-JANITZ K., WITT M., JARUZELSKA J. 1995. Gen SRY — pierwotny włącznik determinacji płci u człowieka? *Postępy Biochemii* 41, 212-219.
- MYLES D. G., PRIMAKOFF P. 1997. Why did the sperm cross the cumulus? To get the oocyte. Functions of the sperm surface proteins PH-20 and fertilin in arriving at, and fusing with, the egg. *Biol. Reprod.* 56, 320-327.
- NAGAI K. 1996. Molecular basis governing primary sex in mammals. *Jpn. J. Hum. Genet.* 41, 363-379.
- NOTTEBOHM F. 1981. A brain for all seasons: Cyclic anatomical changes in song control nuclei of the canary brain. *Science* 214, 1368-1370.
- RAO E., WEISS B., FUKAMI M., MERTZ A., MEDER J., OGATA T., HEINRICH U., GARCIA-HERAS J., SCHIEBEL K., RAPPALD G. A. 1997. Fish-detection mapping defines a 270 kb short stature critical interval in the pseudoautosomal region PARI on human sex chromosomes. *Hum. Genet.* 100, 236-239.
- REDDY P. P., PAPPENHAUSEN P. R., SUH Y. M., RIDDICK L. M., CALVANO C. J., MANDELL J. 1997. XX sex reversal: molecular analysis of the SRY/ZFY regions. *J. Urol.* 158, 1305-1307.
- RICHARDS W. E., DOBIN S. M., MALONE V., KNIGHT A. B., KUEHL T. J. 1997. Evaluating sex chromosome content of sorted human sperm samples with use dual-color fluorescence in situ hybridization. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 176, 1172-1180.
- RIMINI R., PONIGGIA A., SPADA F., FERRARI S., HARLEY V. R., GOODFELLOW P. N., BIANCHI M. E. 1995. Interaction of normal and mutant SRY proteins with DNA. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 350, 215-220.
- RUCKI T. 1964. Badania morfologiczne nad budową plemnika z uwzględnieniem układu chromatyny jądrowej w odniesieniu do determinacji płci. *Pr. Kom. Med. Doś. Poz. Tow. P. Nau.* 29, 217-241.
- SABER K., CHERR G. N., YUDIN A. L., PRIMAKOFF P., LI M. W., OWERSTREET J. W. 1997. The PH-20 protein in human spermatozoa. *J. Androl.* 18, 151-158.
- SINCLAIR A. H., BERTA P., PALMER M. S., HAWKINS J., R., GRIFFITS B. L., SMITH M. J., FOSTER J. W., FIRSCHAUF A., M., LOVELL-BADGE R., GOODFELLOW P. N. 1990. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 346, 240-244.
- SINGER R., FISH B., LEVINSKY H., ZUKERMAN Z., SAGIV M., COHEN A., BARNET M., LURIE B. B., LAHAV M. 1995. Separation of human semen on Percoll gradients: effect on percentage of motile and morphologically normal sperm and proportion of acrosome reacted sperm. *Int. J. Fertil. Menopausal. Stud.* 40, 161-163.
- SMITH G.T., BERNOWITZ E.A., WINGFIELD J.C. 1997. Seasonal changes in the size of the avian song control nucleus HVC defined by multiple histological markers. *J.Comp. Neurol.* 381, 253-261.
- VRIZ S., GRIFFITS B. L., HARLEY V., GOODFELLOW P., LOVELL-BADGE R. 1995. The SRY protein, like HMG 1, recognizes (CA)_n sequences, an abundant repeat sequence in vertebrates. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 37, 1137-1146.