

**NIEKTÓRE ZAGADNIENIA ZWIĄZANE
Z DOJRZEWANIEM PLEMNIKÓW W NAJĄDRZU**

Lidia Różewicka

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii
Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie

Najądrze jest zróżnicowane morfologicznie i czynnościowo, stąd poszczególne jego odcinki, pełniące odmienne funkcje, powinny być rozpatrywane oddzielnie [25, 53]. Kanaliki odprowadzające, stanowiące początkowy odcinek najądrza, posiadają komórki pełniące funkcje resorboyjne, wydzielnicze oraz transportujące plemniki [29-31, 52]. W kanalikach tych resorbowany jest płyn z rete testis w ilości 50% i więcej [17, 18]. W głowie najądrza niedojrzałe plemniki uzyskują zdolność ruchu i możliwość zapłodnienia. Trzon, a zwłaszcza ogon najądrza, jest odcinkiem, w którym plemniki są magazynowane i w którym wytwarzane jest odpowiednie środowisko do ich przeżywania. Między głową najądrza a nasieniowodem następuje dalsza resorboja płynu, jednocześnie komórki kanału najądrza wydzielają do światła przewodu szereg kolejnych substancji, w tym wiele białkowych [7-10, 12, 42]. Nie analizując szczegółowo składu płynu z rete testis i najądrza, można powiedzieć, że w najądrzu brak jest kilku specyficznych protein charakterystycznych dla rete tes-

tis, pojawiają się natomiast inne specyficzne tylko dla tego odcinka [38]. Wiele z nich łączy się z powierzchnią plemników w czasie ich wędrówki przez najądrze, funkcja innych nie jest znana. Produkcja jednak wszystkich zależna jest od androgenów [42, 7, 12, 47, 22, 64]. Niektóre z tych specyficznych substancji są czynnikami powodującymi ruch postępowy plemników. Czynnikiem tymi okazały się inhibitory fosfodwuesterazy. Zahamowanie aktywności tego enzymu powoduje wzrost stężenia cAMP w plemnikach, co stymuluje ich ruchliwość. Inhibitorem fosfodwuesterazy okazała się glikoproteina o masie 37 000. Nazwano ją „forward motility factor”. Do plemników jest wiązana w czasie ich wędrówki przez najądrze i łączy się z nimi głównie w głowie najądrza. Prawdopodobnie bowiem w czasie przebywania plemników w głowie najądrza zyskują one receptory dla tej glikoproteiny. Produkcja jej zależna jest od androgenów [1, 34, 47, 50]. Istnieje jeszcze wiele innych czynników, które inicjują ruchliwość plemników. Należy do nich przede wszystkim wzrost poziomu jonów wapnia w plemnikach, które w połączeniu z białkiem regulatorowym - kalmoduliną są głównym inicjatorem ruchliwości i procesów metabolicznych w tych gametach [34, 50, 59].

Dojrzewanie plemników w najądrzu to również zmiany strukturalne w nich samych. Mają one miejsce zarówno w jądrze plemnika, jak i jego witce.

Kondensacja chromatyny jąder plemników

Ważnym zjawiskiem w procesie dojrzewania plemników jest kondensacja chromatyny jąder plemników. Podczas spermiogenezy po-

jawiają się w jądrach spermatyd białka zasadowe. W zależności od gatunku mogą to być specyficzne dla plemników histony lub protaminy bogate w argininę i cystynę. W komórkach tych w 15-16 stopniu spermiogenezy rozpoczyna się proces kondensacji chromatyny [4, 41, 46].

Poczas wędrówki plemników przez najądrze kondensacja chromatyny jąder plemników ciągle postępuje, głównie poprzez utlenianie grup sulfhydrylowych cysteiny i tworzenie wiązań dwusiarczkowych [45]. Jak wynika z badań Pellicciari i wsp. [49] ilość grup sulfhydrylowych cysteiny w chromatynie jąder plemników myszy z głowy, trzonu i ogona jej najądrza oraz nasieniowodu wynosi odpowiednio 50, 15, 5 i 3%. Spadek ilości grup sulfhydrylowych spowodowany jest stopniowym utlenianiem ich do wiązań dwusiarczkowych.

Przeprowadzona przez nas analiza komputerowa obrazu jąder spermatyd w 17-19 stopniu spermiogenezy oraz jąder plemników z głowy i ogona najądrza szczura [55] dostarczyła informacji potwierdzających i poszerzających wyżej podane doniesienia.

W miarę przechodzenia plemników z jądra przez najądrze zwiększa się zawartość chromatyny i jej homogenność i są one największe w ogonie najądrza. O tym, że tak jest istotnie, świadczą również pomiary cytofotometryczne ilości DNA. W jądrach plemników z ogona najądrza, w których chromatyna jest najbardziej zbita, wartości ekstynkcji są najniższe. Wynika to z faktu, że im bardziej zbita jest chromatyna, tym mniej jest ona wrażliwa na kwaśną hydrolizę, stosowaną w reakcji Feulgena [40]. Dalszymi dowodami, uzyskanymi z analizy komputerowej, przemawiającymi za postępującą kondensacją chromaty-

ny jąder plemników w miarę ich wędrówki przez najądrze jest stopniowe zmniejszanie się powierzchni jądra i jego obwodu.

Rola cynku w dojrzewaniu plemników

Podobnie jak w chromatynie jądrowej, tak i w białkach strukturalnych witki grupy sulfhydrylowe cysteiny ulegają utlenieniu do wiązań dwusiarczkowych. Pojawienie się tych wiązań powoduje większą sztywność witki plemników, co wg Calvina i Bedforda [13] związane jest z uzyskaniem przez nie ruchliwości.

Plemniki ssaków posiadają wysoką zawartość cynku. Dojrzewanie plemników w najądrzu połączone jest ze znaczną utratą (około 60%) zawartości tego pierwiastka (Gunn i Goud cyt. za 60). Według Calvina i Bleau [14] większość cynku w plemnikach (około 90%) zlokalizowana jest w witce i połączona z grupami sulfhydrylowymi cysteiny. Zatem, w czasie wędrówki plemników z głowy najądrza do ogona następuje utlenianie grup sulfhydrylowych, uwolnienie cynku i tworzenie wiązań dwusiarczkowych. Calvin i Bedford [13] uważają, że to właśnie uwolnienie cynku z grup sulfhydrylowych cysteiny ułatwia utlenienie ich do wiązań dwusiarczkowych. Wiązania dwusiarczkowe wchodzi w skład podobnych do keratyny białek strukturalnych witki plemnika. Najwięcej tych wiązań występuje w zewnętrznej błonie mitochondriów, w otoczce włóknistej i włóknach gęstych. Wszystkie te struktury stają się po uzyskaniu wiązań dwusiarczkowych bardzo stabilne [15].

Zaobserwowano, że zewnętrzna błona mitochondrialna jest znacznie odporniejsza na warunki hypotoniczne [37] i działanie de-

tergentów niż plazmolema leżąca ponad nią [15]. Ulega ona modyfikacjom już w czasie spermiogenezy, kiedy to grubieje z 70 do 100 Å i staje się pięciowarstwową [23]. Według Bedforda i Calvina [3] ta właśnie zewnętrzna błona mitochondrialna plemników ssaków stabilizowana jest wiązaniami dwusiarczkowymi. Pogrubienie i wzmocnienie jej może wynikać z konieczności odpowiedniej adaptacji tego rejonu wstawki narażonego na silne deformacje podczas bicia witki [36].

Bacceti i Afzelius [wg 36] podają, że prawie cały cynk dojrzałego plemnika znajduje się we włóknach gęstych i że włókna te mają liczne grupy SH, z którymi związany jest ten pierwiastek. Duża liczba grup SH oznacza, że proces ich utleniania do S-S nie nastąpił tu całkowicie, a niepełny rozwój wiązań dwusiarczkowych powoduje, że włókna te są mniej sztywne niż inne struktury plemnika z pełnym wysyceniem grup SH do S-S. Jest to powodem, dla którego włókna gęste są bardziej elastyczne i nie hamują bicia witki. Autorzy ci wykonali również analizę biochemiczną białek budujących włókna gęste. Wykazała ona, że białka te zbudowane są z dwóch łańcuchów polipeptydowych, połączonych mostkiem dwusiarczkowym. Pierwszy, o dużej masie cząsteczkowej (42 000-72 000), pozbawiony jest całkowicie siarki, drugi o mniejszej (28 000-31 000) - bogaty jest w cysteinę i siarkę. Białka te autorzy zaliczyli do keratyn i zaproponowali dla nich nazwę pererginy.

Doniesienia powyższe sugerują, że w procesie dojrzwania plemników cynk uwalniany jest w największym stopniu z białek strukturalnych błony zewnętrznej mitochondriów i z otoczki włóknistej, w mniejszym natomiast - z włókien gęstych.

Cynk pojawia się już w komórkach plemnikotwórczych kanalików krętych jądra, a rozmieszczenie jego w komórkach gametogenicznych zależy od stadium cyklu nabłonka plemnikotwórczego.

Obserwacje rozmieszczenia cynku przeprowadzone przez Krużyńskiego i wsp. [39] dają podstawę do przypuszczeń, że wbudowywany jest on do spermatyd w stadium od III do VII. Po uwolnieniu plemników w stadium VIII pozostałe jony cynku, które nie zostały wbudowane w plemniki, transportowane są przez ciała resztkowe do przedziału podstawnego i do cytoplazmy komórek podporowych (Sertoliego), skąd prawdopodobnie są przenoszone do sąsiednich spermatogonii, które przekazują je komórkom następnej spermatogenezy. Istnieje więc w jądrze recyrkulacja cynku, a ciała resztkowe pełnią tu rolę jego nośnika. Jednocześnie ilość tego pierwiastka wbudowywana w spermatydy jest ciągle uzupełniana i dostarczana do komórek plemnikotwórczych z krążenia.

Zatem plemniki przechodzące z jądra do najądrza zawierają już pobrany tam cynk, a w czasie wędrówki przez najądrze następuje stopniowe jego uwalnianie.

Mimo podanych tu wyników badań wielu autorów rola cynku w plemnikach nie jest zupełnie jasna. Istnieje jednak pewna zbieżność w wynikach mówiąca o tym, że od ilości cynku w plemnikach zależy ich zdolność do zapłodnienia. Eliasson [24] podaje, że zawartość cynku w plemnikach płodnych mężczyzn wynosi poniżej $10 \mu\text{g}/10^8$ plemników, a u niepłodnych mężczyzn stężenie to jest znacznie wyższe. Lindholmer i Eliasson [43] stwierdzili najwyższe ilości cynku w plemnikach z nasienia, które zawierało wysoki procent martwych i nieruchomych plemników. Znany jest

fakt, że podawanie estrogenów męczyznom czy samcom zwierząt doświadczalnych powoduje u nich czynnościową niepłodność. Ciekawych danych dostarczyły badania Srivastava i wsp. [60], którzy samcom szczurów podawali przez dwa tygodnie niskie dawki estrogenów. W plemnikach pobranych z ogona najądrza tych zwierząt nie stwierdzono redukcji cynku. Dane te sugerują, że również hormony płciowe mają wpływ na uwalnianie cynku z plemników w czasie ich wędrówki przez najądrze.

Wydaje się, że również inne związki oddziałujące na układ hormonalny mogą mieć wpływ na uwalnianie cynku z plemników. W przeprowadzonym przez nas doświadczeniu, w którym samcom szczurów podawaliśmy metoclopramid (4-amino-5-chloro-N-/2-dietylaminoetyl -2-metoksy benzamid), związek antydopaminergiczny, powodujący hiperprolaktynemię, plemniki z ogona najądrza szczurów nie uwolniły cynku. Wartości uzyskane z oznaczeń tego pierwiastka w plemnikach z ogona najądrza były równe lub większe od ilości uzyskanych w plemnikach z głowy najądrza. W grupie szczurów kontrolnych natomiast różnica w ilości tego pierwiastka w plemnikach z głowy i ogona najądrza wynosiła 56%. Po dwóch tygodniach od zaprzestania podawania metoclopramidu wartości cynku w plemnikach z głowy i ogona najądrza były podobne do uzyskanych w grupie kontrolnej [56].

Rola androgenów w dojrzewaniu plemników w najądrzu

Nie wydaje się obecnie budzić wątpliwości fakt, że czynnikami kontrolującymi proces dojrzewania plemników w najądrzu są androgeny. Badania Dysona i Orgebin-Crist [20, 48] rzuciły du-

zo światła na rolę androgenów w rozwoju ruchliwości plemników. Plemniki z głowy najądrza szczurów nie wykazują ruchu postępowego, a pływają w ciasnych kręgach. Jednokierunkowy ruch uzyskują dopiero w proksymalnej części ogona najądrza. W trzy dni po kastracji plemniki z ogona najądrza zachowują się typowo dla plemników pobranych z jego głowy. Po podaniu testosteronu przywrócony zostaje ruch jednokierunkowy. Dane te sugerują, że androgeny stymulują najądrze do produkcji czynników, które są zaangażowane w ruch postępowy plemników. Również z wielu obserwacji i doniesień wynika, że wpływ androgenów na plemniki w najądrzu jest głównie pośredni. Hormony te stymulują komórki nabłonkowe najądrza do szeregu czynności głównie sekrecyjnych, a wydzieliny wytwarzane pod ich wpływem w komórkach przyczyniają się do dojrzewania plemników i ich przeżywania [8, 10, 18, 21, 25, 50, 64]. Przy niedoborze androgenów, pojawiają się w najądrzu morfologicznie niedojrzałe plemniki [6].

Najądrze otrzymuje androgeny z trzech źródeł. Płyn niosący plemniki z jądra do najądrza zawiera testosteron (T). Transportowany tą drogą T związany jest z białkiem wiążącym androgeny - androgen binding protein (ABP) - a los tego białka w najądrzu może być różny. ABP może w świetle najądrza uwalniać niesione androgeny bez wchodzenia do komórek nabłonkowych. Kompleks ABP-androgen może być absorbowany przez komórki nabłonkowe w proksymalnej części najądrza. Androgeny uwalniane są wtedy w komórkach i oddawane receptorom cytoplazmatycznym, które przenoszą je do jąder komórkowych, a ABP degradowane jest przez enzymy lizosomalne [26]. Drugą pulę androgenów otrzymuje najądrze z krążenia. Hormony te wchodzą do najądrza poprzez ko-

mórki nabłonkowe, drogą dyfuzji ułatwionej [63]. Trzecią możliwością sugerują badania Hamiltona i Fawcetta [32]. Autorzy ci podają, że komórki najądrza chomika mogą same syntetyzować niewielkie ilości testosteronu. Badania histochemiczne i biochemiczne wykazały, że enzymy potrzebne do przekształcenia takich sterydów jak pregnenolon i progesteron są obecne w tkankach najądrza i że mogą one przekształcać pregnenolon i progesteron w dalszych etapach sterydogenezy [28, 35].

Głównym androgenem najądrza jest dwuhydropregnenolon (DHT). Jest on bardziej efektywny w utrzymaniu zdolności do zapłodnienia plemników niż T [44]. Komórki najądrza posiadają wysoką aktywność 5- α -reduktazy, enzymu, który przekształca T w DHT [19, 54, 58]. Androgeny występują w różnym stężeniu w płynie najądrza i w tkankach w zależności od części najądrza. Stężenie 5- α DHT jest wyższe w proksymalnej części najądrza szczura niż dystalnej. Z całkowitej ilości DHT w części bliższej (30,2 ng/g tkanki) 20,5 ng znajduje się w płynie najądrza, podczas gdy z całkowitej ilości tego hormonu w dalszej części najądrza (8,6 ng/g tkanki) w płynie występuje 2,4 ng. Ilość T, obecna w płynie części bliższej i dalszej najądrza szczura, wynosi 1-2 ng/g tkanki. W płynie kanalików odprowadzających natomiast koncentracja T jest wysoka (28,8 ng/ml), a DHT znacznie niższa (1,9 ng/ml). Dane te wskazują, że płyn, w którym zanurzone są plemniki w najądrzu, zawiera wysokie stężenie androgenów i że w miarę przesuwania się płynu z jądra do najądrza występuje zmiana stosunku ilościowego T do DHT [65].

Istnieją dowody, że DHT jako główny metabolit T ma podstawowe znaczenie dla utrzymania dojrzwania i zdolności za-

plodniącej plemników. Badania prowadzone przez wielu autorów wykazały, że DHT i 3- α diol są głównymi metabolitami egzogennie podawanego T w najądrzu szczurów *in vivo* [2, 51]. Stosunek DHT do 3- α diol był znacznie wyższy w płynie najądrza (5,1:1) niż w tkance najądrza (2,6:1). Fakt, że koncentracja tych metabolitów jest wyższa w płynie najądrza niż w tkance tego narządu przemawia za tym, iż DHT uprzywilejowanie przechodzi z komórek do światła przewodu najądrza, co jest niewątpliwie ważne do inicjacji wewnątrzkomórkowych procesów w komórkach najądrza i dodatkowo pełni rolę aktywnego androgenu w świetle przewodu najądrza [2]. Potwierdzeniem bezpośredniego wpływu androgenów na komórki nabłonkowe najądrza jest obecność w nich specyficznych receptorów dla T i DHT. Wykazano, że (^3H)T i (^3H)DHT podany dożylnie kastrowanym szczurom lokalizuje się w jądrach komórek nabłonkowych i że łączenie się (^3H)T z receptorem jądrowym *in vitro* jest ograniczone. Przy niskim stężeniu (^3H)T w środowisku 75-92% radioaktywności związanej z receptorem należy do (^3H)DHT i stan ten nie ulega zmianie, kiedy stężenie (^3H)T w środowisku ulega zwiększeniu. Świadczy to o tym, że DHT jest specyficznym hormonem związanym z receptorem komórek nabłonkowych najądrza [5]. Potwierdzeniem tego są wyniki badań *in vitro*, w których wykazano, że DHT zlokalizowany w jądrach komórek najądrza związany jest z kontrolą syntezy białek [5, 27].

Potwierdzenie tego faktu uzyskaliśmy również w prowadzonych przez nas hodowlach komórek nabłonkowych kanalików odprowadzających najądrza szczura. Komórki te reagowały na brak hormonów androgennych znacznym zmniejszeniem wydzielania i obniżeniem

liczby podziałów mitotycznych [57]. Zatem w obecności androgenów komórki najądrza przez swą zdolność do wydzielania i absorpcji utrzymują stałe środowisko w świetle przewodu najądrza, korzystne dla dojrzewania i przeżywania plemników.

Podanie szczurom antyandrogenu - octanu cyproteronu - powoduje, że komórki najądrza nie pobierają androgenów. Spowodowane to jest kompetytywnym wiązaniem antyhormonu z receptorem i niemożliwością przeniesienia utworzonego kompleksu octan cyproteronu - receptor do jąder komórkowych. Jest prawdopodobne, że konfiguracja tego kompleksu jest oporna na procesy aktywacyjne [62]. Stwierdzono, że octan cyproteronu podany szczurom podskórnie lub wszczepiony w kapsułkach obniża zdolność do zapłodnienia plemników [61].

Istnieje jeszcze wiele innych czynników koniecznych dla dojrzewania plemników w najądrzu. Niezbędne są dla tego procesu również wszystkie te substancje, do syntezy których najądrze musi pobrać pewne składniki z krążenia np. glicerofosfatydylocholina [11, 33], lub które w całości pobierane są z krążenia, np. karnityna. Ta ostatnia chociażby wydaje się równie ważna w procesie dojrzewania plemników w najądrzu jak i inne wymienione powyżej czynniki. Plemniki gromadzą karnitynę, która wpływa na ruchliwość i oddychanie dojrzewających plemników, bierze udział w utlenianiu kwasów tłuszczowych, służy jako substrat energii dla dojrzewających plemników [16, 33]. Dojrzewanie plemników w najądrzu jest ściśle powiązane z całym szeregiem enzymów, niezbędnych do przemian metabolicznych zarówno w samych plemnikach, jak i w komórkach nabłonkowych. Zagadnienia te nie mieszczą się jednak w ramach tego opracowania.

LITERATURA

1. Ascott T. S., Hoskins D. D.: Bovine sperm forward motility protein. *J. Biol. Chem.* 1978, 253, 6744-6750.
2. Back D. J.: The presence of metabolites of ^3H -testosterone in the lumen of the cauda epididymis of the rat. *Steroids* 1975, 25, 413-420.
3. Bedford J. M., Calvin H. I.: Changes in -s-s-linked structures of the sperm tail during epididymal maturation, with comparative observations in sub-mammalian species. *J. Exp. Zool.* 1974, 187, 181-203.
4. Bellve A. R., Anderson E., Hanley-Bowdoin L.: Synthesis and aminoacid composition of basic protein in mammalian sperm nuclei. *Devl. Biol.* 1975, 47, 349-365.
5. Blaquier J. A., Calandra R. S.: Intranuclear receptor for androgens in rat epididymis. *Endocrinology* 1973, 93, 51-60.
6. Blaquier J. A., Cameo M. S., Burgos M. H.: The role of androgens in the maturation of epididymal spermatozoa in the guinea pig. *Endocrinology* 1972, 90, 839-842.
7. Brooks D. E.: Secretion of proteins and glycoproteins by the rat epididymis: regional differences, androgen-dependence and effects of protease inhibitors, procaine and tunicamycin. *Biol. Reprod.* 1981, 25, 1099-1117.
8. Brooks D. E.: Purification of rat epididymal proteins D and E, demonstration on shared immunological determinants, and identification of regional synthesis and secretion. *Int. J. Androl.* 1982, 5, 513-524.
9. Brooks D. E.: Selective binding of specific rat epididymal secretory proteins to spermatozoa and erythrocytes. *Gamete Res.* 1983, 4, 367-376.
10. Brooks D. E., Tiver K.: Localization of epididymal secretory proteins on rat spermatozoa. *J. Reprod. Fert.* 1983, 69, 651-657.
11. Brooks D. E., Hamilton D. W., Mallek A. H.: Carnitine and

- glycerylphosphorylcholine in the reproductive tract of the male rat. *J. Reprod. Fert.* 1974, 36, 141-160.
12. Cameo M. S., Cuasnicó P. S., Garberi J. C., Gonzalez Echeverria F., Kohane A., Piazza A., Pinerro L., Blaquier J. A.: Some studies on secretory epididymal proteins and their possible relation to sperm maturation. W: *Recent advances in male reproduction: Molecular basis and clinical implications*. Ed. D'Agata R., Lipsett M. B., Polosa P., van der Molen H. J., Raven Press, New York 1983, 27-35.
 13. Calvin H. I., Bedford J. M.: Formation of disulphide bonds in the nucleus and accessory structures of mammalian spermatozoa during maturation in the epididymis. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 1971, 13, 65-75.
 14. Calvin H. I., Bleau G.: Zinc - thiol complexes in keratin-like structures of rat spermatozoa. *Exp. Cell Res.* 1974, 85, 280-284.
 15. Calvin H. I., Bedford J. M.: Effect of epididymal maturation, zinc (II) and copper (II) on the reactive sulfhydryl content of structural elements in rat spermatozoa. *Exp. Cell Res.* 1973, 81, 333-341.
 16. Casillas E. R., Erickson B. J.: Studies on carnitine synthesis in the rat epididymis. *J. Reprod. Fert.* 1975, 287-291.
 17. Carbo B.: Studies on the composition of epididymal content in bulls and boars. *Acta Vet. Scan.* 6 (Suppl.) 1965, 5, 1-94.
 18. Djakiew D., Jones R. C.: Sperm maturation, fluid transport and secretion and absorption of protein in the epididymis of the Echidna, *Tachyglossus Aculeatus*. *J. Reprod. Fertil.* 1983, 68, 445-456.
 19. Djøseland O., Bruchowsky N., Rennie P. S., Otal N., Høglø S.: 5- α -reductase activity in stroma and epithelium of rat prostate and epididymis. A contribution to elucidation of the mechanism for development of hyperplastic growth of prostatic tissue. *Acta Endocrinol.* 1983, 103, 273-281.
 20. Dyson A. L. M. B., Orgebin-Crist M. C.: Effect of hypo-

- physectomy, castration and androgen replacement upon the fertilizing ability of rat epididymal spermatozoa. *Endocrinology* 1973, 93, 391-401.
21. Echeverria F. M. G., Cuasnicu P. S., Blaquier J. A.: Identification of androgen-dependent glycoproteins in the hamster epididymis and their association with spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 1982, 64, 1-7.
 22. Echeverria F. G., Cuasnicu P. S., Piazza A., Pineiro L., Blaquier J. A.: Addition of an androgen-free epididymal protein extract increases the ability of immature hamster spermatozoa to fertilize in vivo and in vitro. *J. Reprod. Fert.* 1984, 71, 433-437.
 23. Elfvin L. G.: An ultrastructural difference between the outer and inner membrane of the middle piece mitochondria in rat spermatozoa. *J. Ultrastr. Res.* 1968, 24, 259-268.
 24. Eliasson R.: Analysis of semen: W: The testis. Ed. Burger H., de Kretser D, Raven Press, New York, 1981, 381.
 25. Flickinger Ch. I: Regional differences in synthesis, intracellular transport and secretion in the mouse epididymis. *Biol. Reprod.* 1981, 25, 871-883.
 26. French F. S., Ritzen E. M.: A high - affinity androgen-binding protein (ABP) in rat testis: Evidence for secretion into efferent duct fluid and absorption by epididymis. *Endocrinology* 1973, 93, 88-95.
 27. Ganjam V. K., Amann R. P.: Steroids in fluids and sperm entering and leaving the bovine epididymis, epididymal tissue and accessory sex gland secretions. *Endocrinology* 1976, 99, 1618-1630.
 28. Gloyna R. E., Wilson J. D.: A comparative study of conversion of testosterone to 17β -hydroxy- 5α -androstane-3-one (dihydrotestosterone) by prostate and epididymis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1969, 29, 970-977.
 29. Goyal H. O., Hrudka F.: Ductuli efferentes of the bull - A morphological, experimental and developmental study. *Andrologie* 1981, 13, 292-306.
 30. Goyal H. O., Hrudka F.: The resorptive activity in the bull efferent ductules - A morphological and experimental study. *Andrologie* 1980, 12, 401-414.

31. Gray B. W., Brown B. G., Ganjam V. K., Whitesides J. F.: Effect of deprivation of rete testis fluid on the morphology of efferent ductules. *Biol. Reprod.* 1983, 29, 525-534.
32. Hamilton D. W., Fawcett D. W.: In vitro synthesis of cholesterol and testosterone from acetate by rat epididymis and vas deferens. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1970, 133, 693-695.
33. Hinton B. T.: The epididymal microenvironment. A site of attack for a male contraceptive? *Invest. Urol.* 1980, 18, 1-10.
34. Hoskins D. D., Brandt H., Acott T. S.: Initiation of sperm motility in the mammalian epididymis. *Federation Proc.* 1978, 37, 2534-2542.
35. Inano H., Machino A., Tamaoki B.: In vitro metabolism of steroid hormones by cell free homogenates of epididymides of adult rats. *Endocrinology* 1969, 84, 997-1003.
36. Kaczmarek F.: Ultrastruktura plemnika ssaka. *Post. Biol. Kom.* 1978, 5, 301-319.
37. Keyhani E., Storey B. T.: Conservation capacity and morphological integrity of mitochondria in hypotonically treated rabbit epididymal spermatozoa. *Biochim. Biophys. Acta* 1973, 305, 557-569.
38. Koskimies A. J., Korman M.: Proteins in fluids from different segments of the rat epididymis. *J. Reprod. Fert.* 1975, 43, 345-348.
39. Kruczyński D., Passia D., Haider S. G., Glassmeyer M.: Zinc transport through residual bodies in the rat testis; a histochemical study. *Andrologia* 1985, 17, 98-103.
40. Krygier-Stojalowska A.: Metody cytochemiczne stosowane w ilościowej cytochemii. W: Wybrane zagadnienia z cytofizjologii. Nowe metody i wyniki. Wydaw. Pol. Akad. Nauk. Wrocław-Warszawa-Kraków-Gdańsk 1979, 7-29.
41. Lam D. M. K., Bruce W. R.: The biosynthesis of protamine during spermatogenesis of the mouse: extraction, partial characterization and site of synthesis. *J. Cell. Physiol.* 1972, 78, 13-24.
42. Lea O. A., Petrusz P., French F. S.: Purification and lo-

- calization of acidic epididymal glycoprotein (AEG): a sperm coating protein secreted by the rat epididymis. *Int. J. Androl. Suppl.* 1978, 2, 592-607.
43. Lindholmer Ch., Eliasson R.: Zinc and magnesium in human spermatozoa. *Int. J. Fert.* 1972, 17, 153-166.
44. Lubicz-Nawrocki C. M.: The effects of metabolites of testosterone on the development of fertilizing ability of spermatozoa in the epididymis of castrated hamsters. *J. Exp. Zool.* 1976, 197, 89-96.
45. Marushige Y., Marushige K.: Transformation of sperm histones during formation and maturation of rat spermatozoa. *J. Biol. Chem.* 1975, 250, 39-45.
46. Meistrich M. L., Brock W. A., Grimes S. R., Platz R. D., Hnilica L. S.: Nuclear protein transitions during spermatogenesis. *Federation Proc.* 1978, 37, 2522-2525.
47. Mongkolsirikieat S., Chulavatnatol M.: Phosphorylated secretory proteins from rat epididymis and their androgenic control. *J. Reprod. Fert.* 1984, 72, 423-428.
48. Orgebin-Crist M. C., Jahad N., Hoffman L. H.: The effects of testosterone, 5α -dihydrotestosterone, 3α -androstane-diol, and 3β -androstane-diol on the maturation of rabbit epididymal spermatozoa in organ culture. *Cell Tiss. Res.* 1976, 167, 515-525.
49. Pellicciari C., Hosokawa Y., Fukudo M., Romanini M. G. M.: Cytofluorometric study of nuclear sulphhydryl and disulphide groups during sperm maturation in the mouse. *J. Reprod. Fert.* 1983, 68, 371-376.
50. Pholpramool G., Lea O. A., Burrow P. V., Dott H. M., Setchell B. P.: The effects of acidic epididymal glycoprotein (AEG) and some other proteins on the motility of rat epididymal spermatozoa. *Int. J. Androl.* 1983, 6, 240-248.
51. Pujal A., Bayard F., Luvet J. P., Bouland C.: Testosterone and dihydrotestosterone concentrations in plasma, epididymal tissues and seminal fluid of adult rats. *Endocrinology* 1976, 98, 111-113.
52. Ramos A. S., Dym M.: Ultrastructure of the ductuli efferentes in monkeys. *Biol. Reprod.* 1977, 17, 339-349.

53. Reid B. L., Cleland K. W.: The structure and function of the epididymis. *Aust. J. Zool.* 1957, 5, 223-246.
54. Robaire B., Ewing L. L., Zirkin R. B., Irby D. C.: Steroid Δ^4 -5 α -reductase and 5 α -hydroxysteroid dehydrogenase in the rat epididymis. *Endocrinology* 1977, 101, 1379-1390.
55. Różewicka L., Laszczyńska M.: Computer image analysis of spermatozoa from testis as well as caput and cauda of rat's epididymis. *Folia Histochem. Cytobiol.* 1984, 22, 224-225.
56. Różewicka L., Kamińska B., Dominiak B., Millo S.: Zawartości cynku w plemnikach z głowy i ogona najądrza szczurów otrzymujących metoclopramid (praca w opracowaniu do druku).
57. Różewicka L., Kamińska B., Laszczyńska M., Kawiak J.: Isolation technique and identification of epithelial cells from efferent ductules of the rat epididymis. *Fol. Hist. Cytobiol.* 1985, 23, 11-20.
58. Scheer H., Robaire B.: Subcellular distribution of steroid Δ^4 - 5 α -reductase and 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase in the rat epididymis during sexual maturation. *Biol. Reprod.* 1983, 29, 1-10.
59. Śliwa L.: Regulacja ruchliwości plemników ssaków. *Kosmos* 1984, 3, 289-294.
60. Srivastava A., Chowdhury A. R., Setty B. S.: Zinc content of maturing spermatozoa in oestrogen treated rats. *Int. J. Androl.* 1983, 6, 103-108.
61. Steinbeck H., Mehring M., Neuman F.: Comparison of the effects of cyproterone, cyproterone acetate and oestradiol on testicular function, accessory sexual glands and fertility in a long-term study on rats. *J. Reprod. Fertil.* 1971, 26, 65-76.
62. Tezon J. G., Vazquez M. H., Blaquier J. A.: Androgen - controlled subcellular distribution of its receptor in the rat epididymis: 5 α - dihydrotestosterone - induced translocation is blocked by antiandrogens. *Endocrinology* 1982, 6, 2039-2045.

63. Turner T. T., Cochran R. C., Howards S. S.: Transfer of steroids across the hamster blood testis and blood epididymal barriers. *Biol. Reprod.* 1981, 25, 342-348.
64. Voglmayr J. K., Fairbanks G., Lewis R. G.: Surface glycoprotein changes in ram spermatozoa during epididymal maturation. *Biol. Reprod.* 1983, 29, 767-775.
65. Vreeburg J. T. M.: Distribution of testosterone and 5- α -dihydrotestosterone in rat epididymis and their concentrations in efferent duct fluid. *J. Endocr.* 1975, 67, 203-210.

Lidia Rózewicka

SOME PROBLEMS CONNECTED WITH MATURATION
OF SPERMATOZOA IN EPIDIDYMIS

S u m m a r y

Some factors exerting influence upon the morphological and functional maturation of spermatozoa in epididymis have been discussed. They include proteins and glycoproteins produced by epithelial cells of the epididymal duct. Some of them have a stimulating effect on the motility of spermatozoa, the others provide conditons for their correct maturation and survival at the time of storing. The process of spermatozoon maturation in epididymis involves both the nucleus and the spermatozoon tail. Chromatin is being condensed during the migration of spermatozoa from the testis to cauda epididymis which is accompanied by a decrease affecting the surface and the circumference of spermatozoon nucleus, whereas in proteins of some spermatozoon tail structures oxidation takes place of

cysteine SH groups to disulphide bonds. There is a simultaneous loss of zinc in the spermatozoa. This process is influenced by sexual hormones. A number of communications, proving that androgens are the factors that control the maturation process of spermatozoa in epididymis have also been presented.

Л. Ружевицка

НЕКОТОРЫЕ ПРОБЛЕМЫ СВЯЗАННЫЕ С СОЗРЕВАНИЕМ СПЕРМАТОЗОИДОВ
В ПРИДАТКЕ СЕМЕННИКА КРЫСЫ

Р е з ю м е

Обсуждено некоторые факторы влияющие на морфологическое и деятельное созревание сперматозоидов внутри придатка семенника крысы. Принадлежат к ним белки гликопротеиды, продуцированные клетками эпителия протока придатка семенника крысы. Некоторые имеют стимулирующее влияние на подвижность сперматозоидов, другие обуславливают их созревание и проживательность во время складывания. Процесс созревания сперматозоидов внутри придатка семенника крысы касается одиноково, так семенника крысы, как и жгутика сперматозоида. Во время путешествования сперматозоидов из семенника до кауды придатка семенника крысы происходит конденсация хроматина, который сопровождается уменьшением поверхности и окружности ядра сперматозоида, а в белках некоторых структур жгутика сперматозоида наступает окисление SH-группы цистеины до дисульфидных связи. Сопутствует тому потеря сперматозоидами цинка. На этот процесс влияют половые гормоны. Представлено тоже ряд изве-

щений свидетельствующих о том, что контрольными факторами процесса созревания сперматозоидов в придатке семенника крысы являются андрогены.