

Maturazione e deposito epididimali

Le modificazioni delle cellule germinali maschili che avvengono al di fuori della gonade non sono sottoposte a controllo genomico da parte delle cellule germinali stesse, ma esclusivamente regolate dalle interazioni con l'ambiente circostante.

L'epididimo deriva dal mesonefrio.

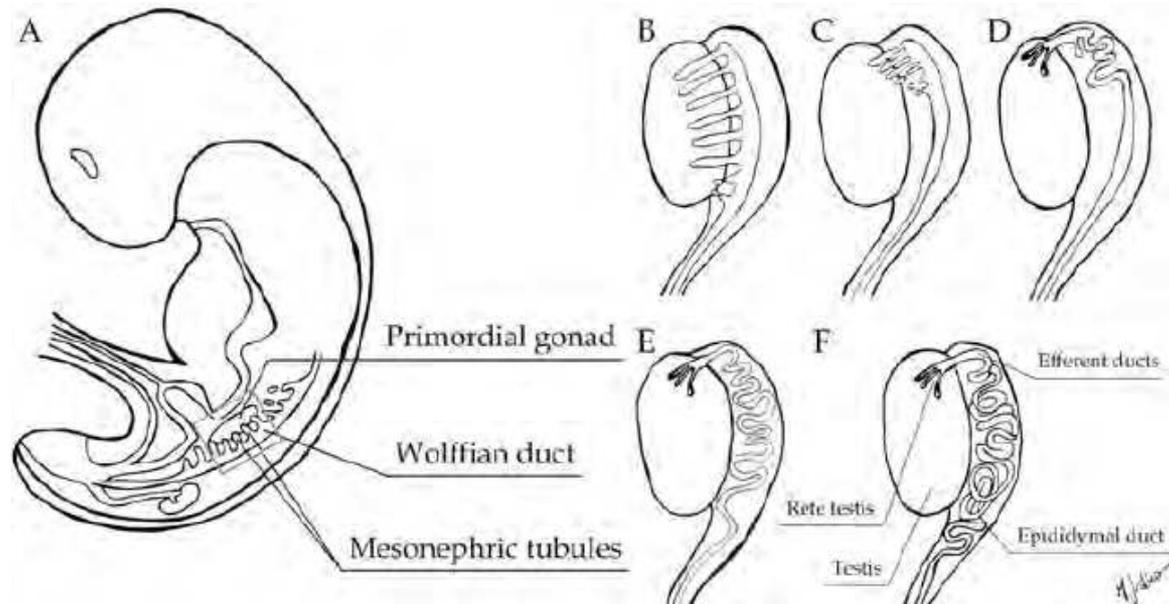
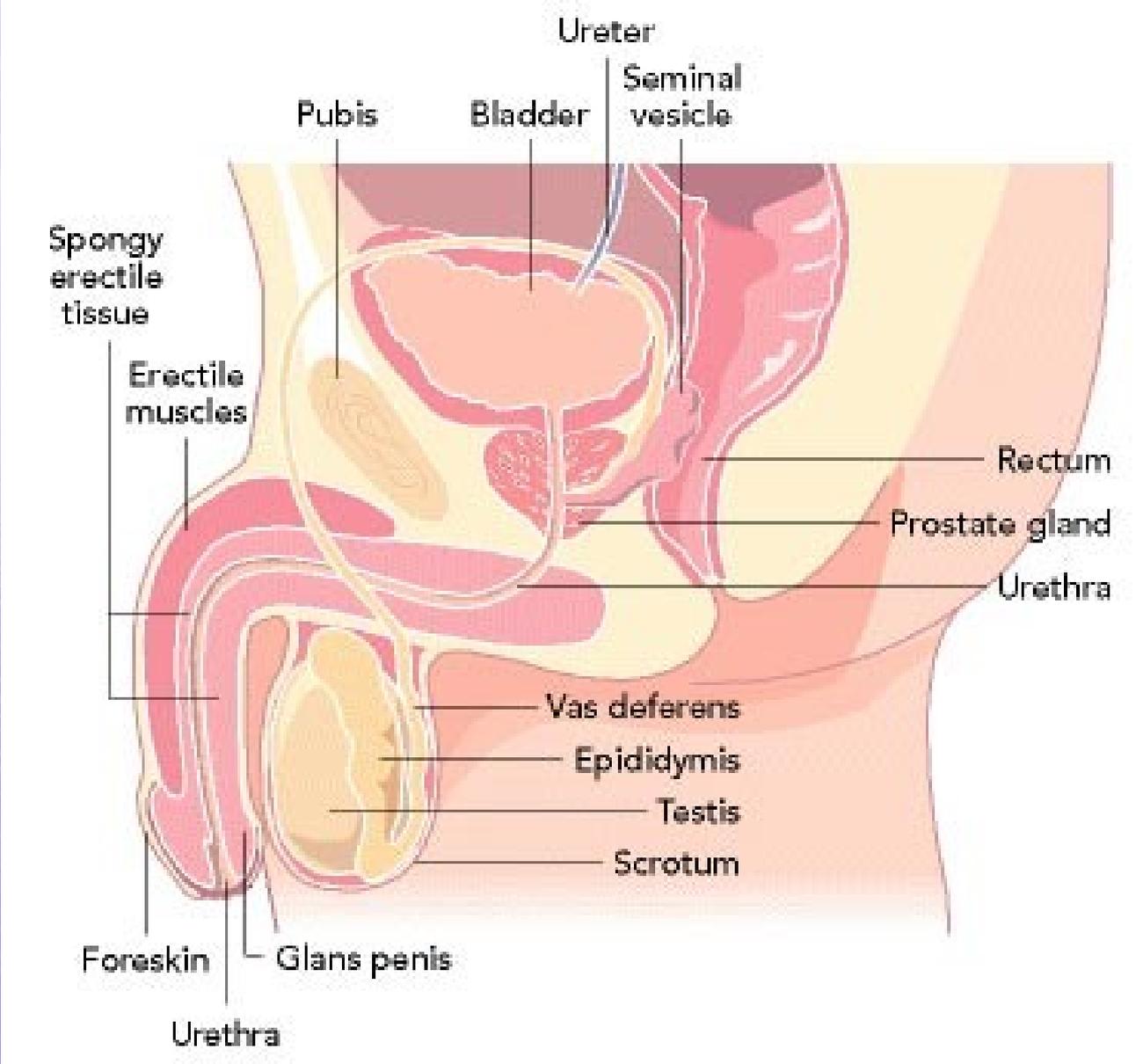
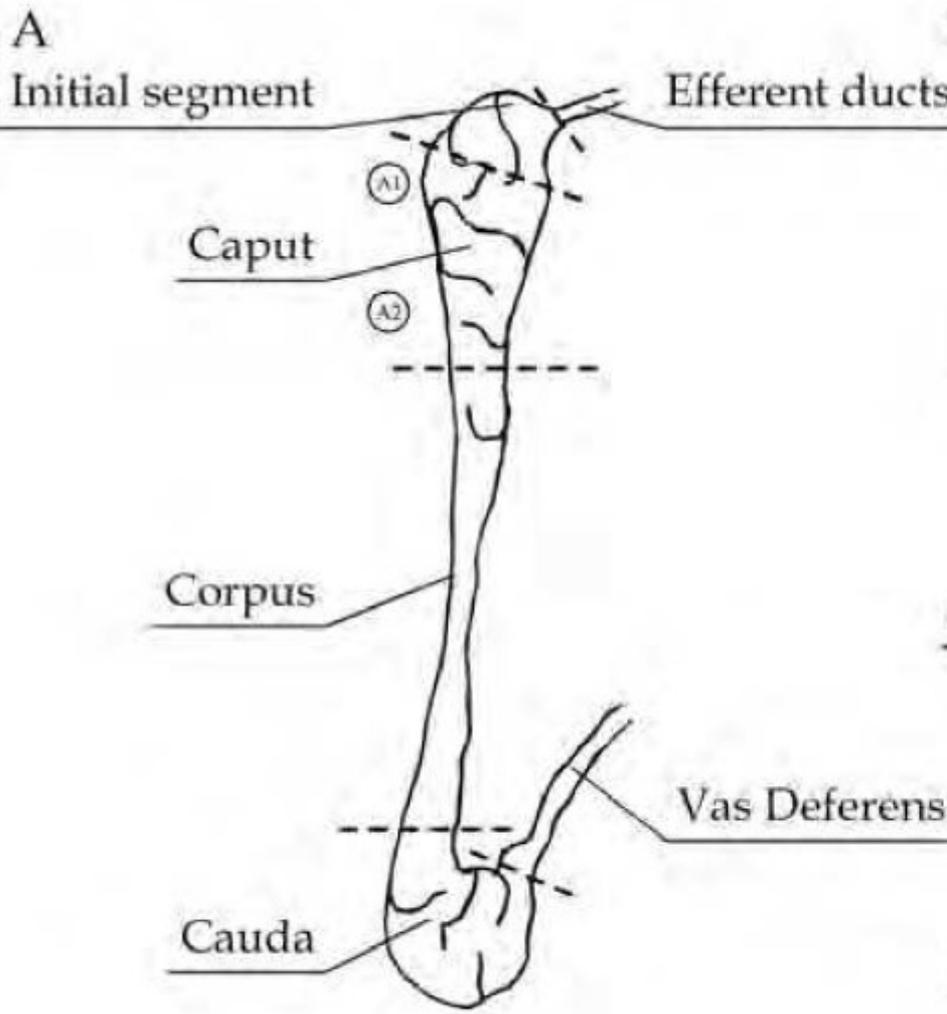
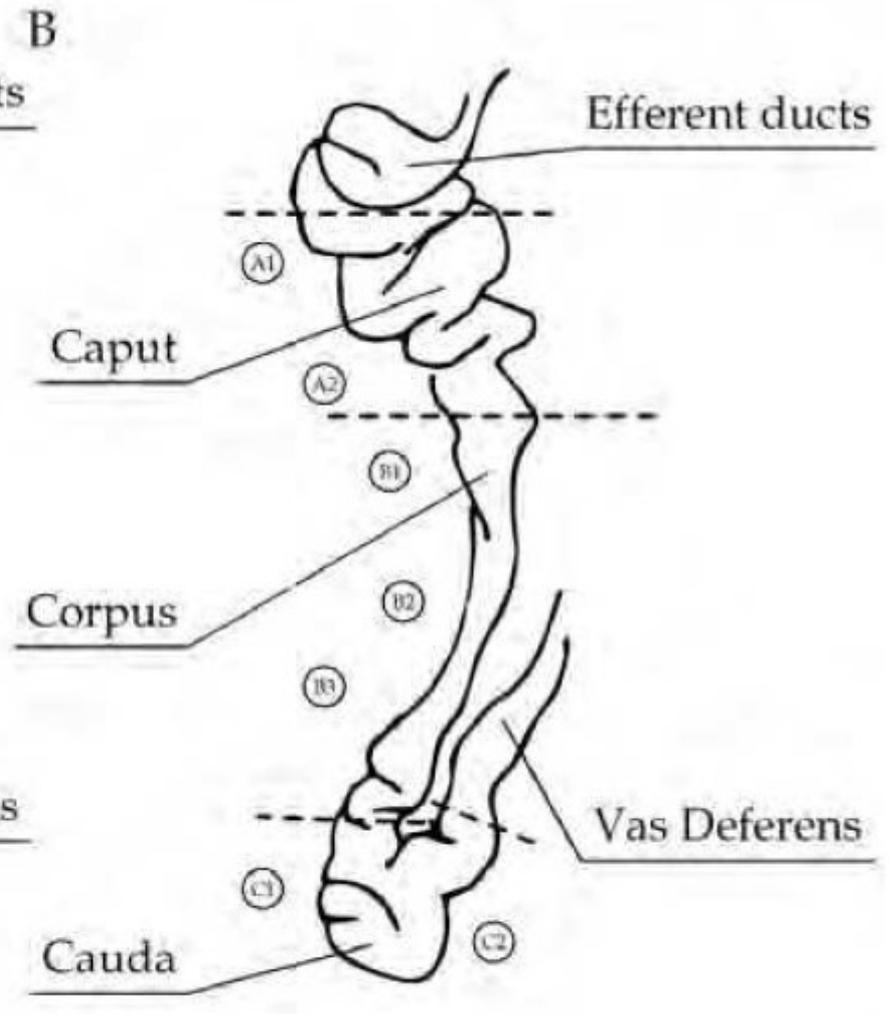


Fig. 2. The intra-uterine development of the epididymis. A) A sagittal section of a mouse embryo showing the relative locations of the developing urogenital structures. B) The testicular production and secretion of testosterone positively regulates the Wolffian ducts. The ducts then induce the formation of the mesonephric tubules in the mesonephric mesenchyme that extend to the epithelial cells of the gonad. C) The cords arising from the apical mesonephric tubules form the efferent ducts and fuse with the adjacent ducts to form the rete testis. The coiling of the initial segment of the efferent duct is not shown here, but it proceeds independently of the coiling of the main epididymal duct shown in D, E and F. D) The coiling shifts from the proximal to the distal duct in a temporal fashion. E) The initial stages of coiling are planar, meaning that the coiling is at the two-dimensional level. F) The three-dimensional coiling proceeds in a caput-to-cauda direction and is completed in the early postnatal period.





Mouse



Human

H. J. Wilson

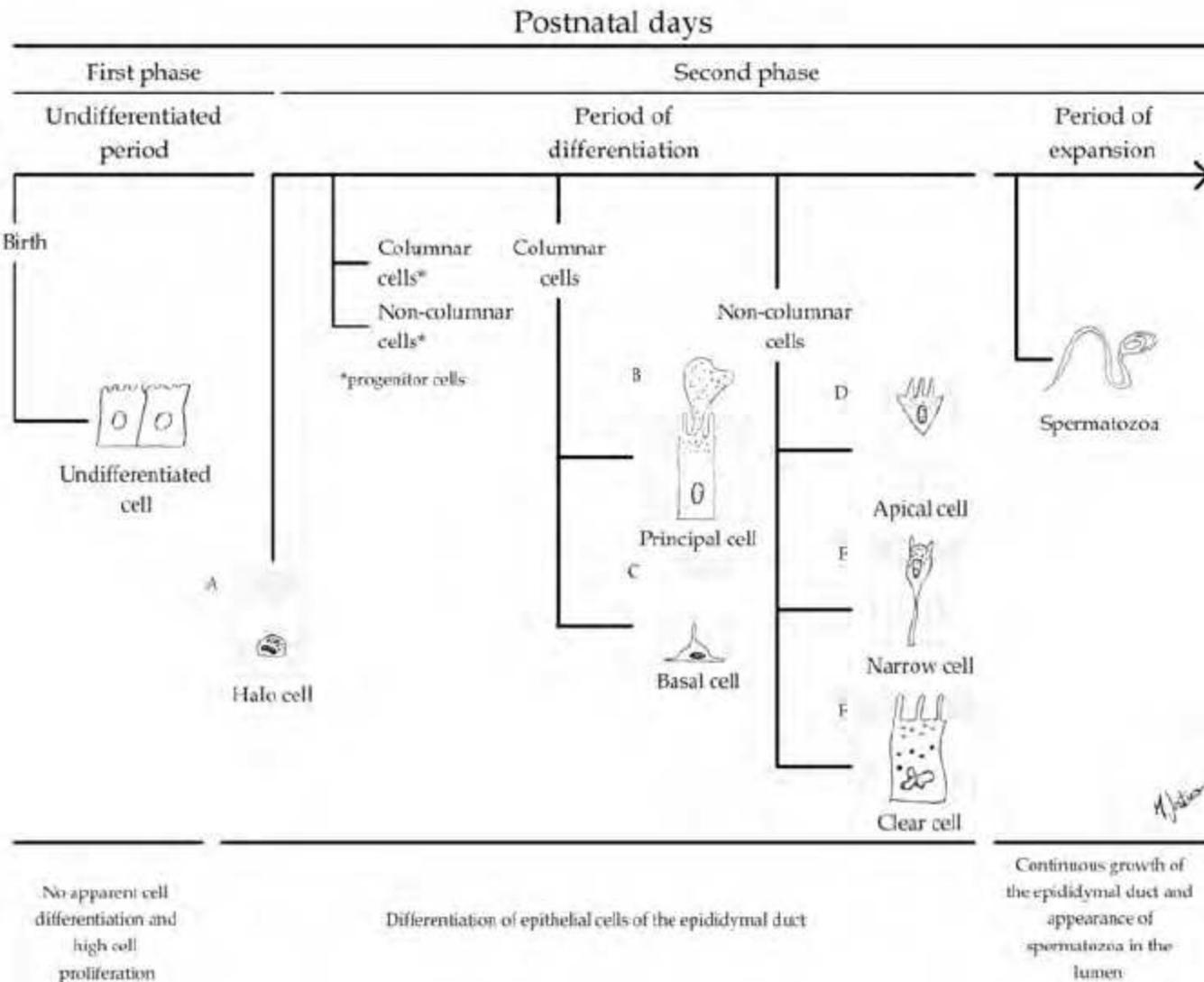
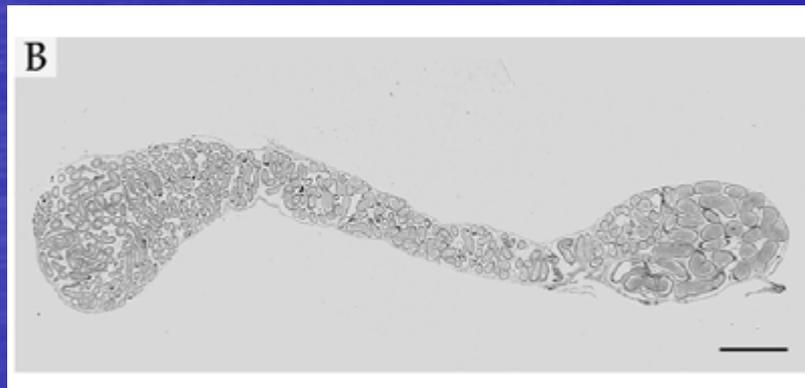
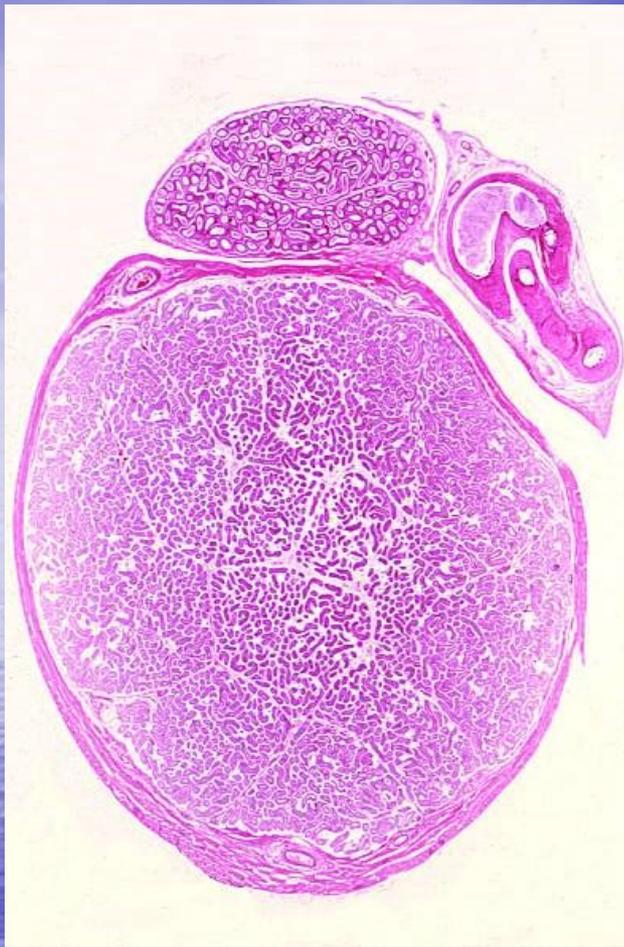


Fig. 3. A schematic diagram that describes the differentiation of the mouse epididymal epithelium from birth until adulthood. A to F indicate the different types of cells in the epithelium of the epididymis.



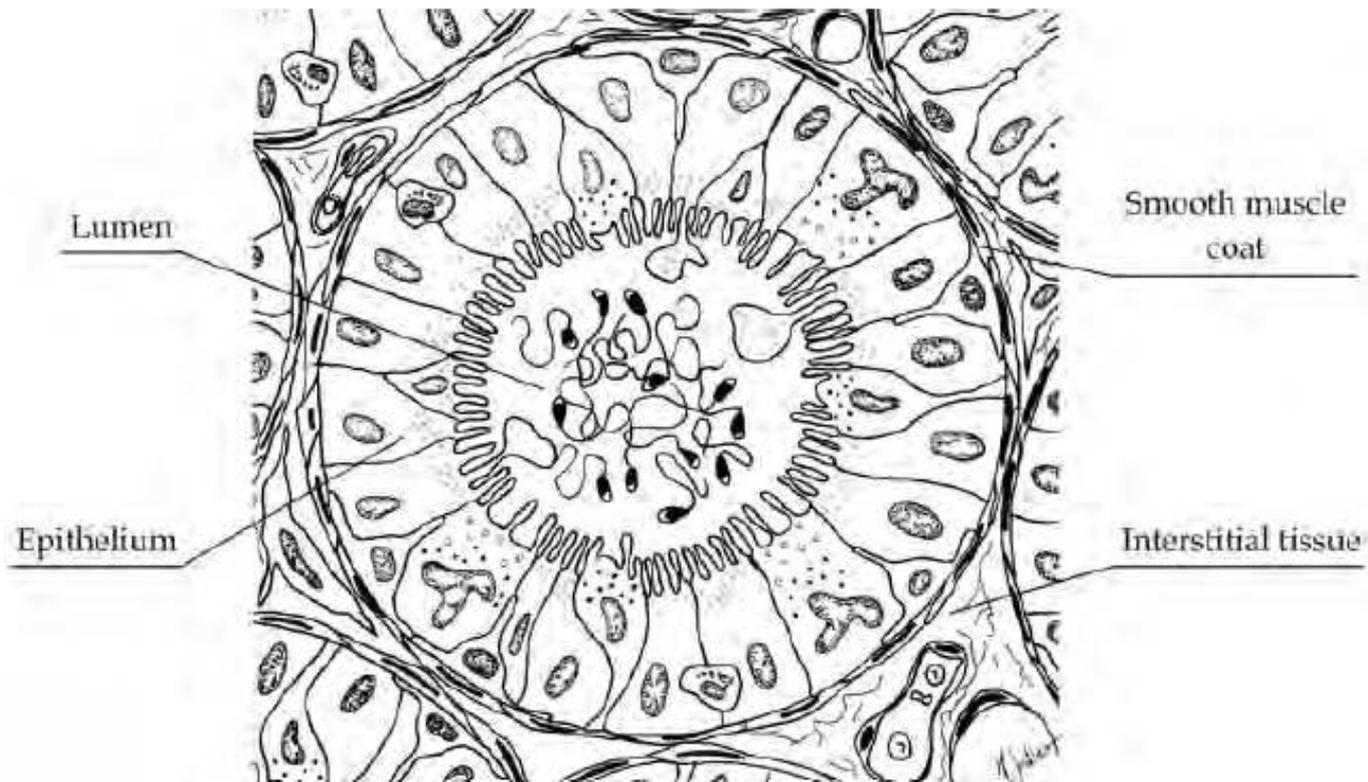


Fig. 6. A schematic cross section of epididymis showing the organization of the major cell types in the epithelium of the epididymal duct as observed through a light microscope. A generic epididymal compartment with the relative position and distribution of all cell types found throughout the epithelium is illustrated. The thinnest coat of organized smooth muscle is in the interstitial tissue surrounding the duct and is characteristic of the anterior regions of the epididymis. Note the spermatozoa in the center of the epididymal lumen.

- Cellule principali: 80% in testa, fino a 65% in coda. Colonnari, dotate di stereociglia. Coinvolte in secrezione controllo proteine luminali.
- Cellule basali: circa il 15 – 20%, di forma triangolare, non arrivano al lume. Origine extra-tubulare. Funzione non ben nota (regolazione funziona immunitaria?).
- Cellule apicali: circa il 10% nel segmento iniziale e circa 1% totale. Mitocondri vicino apice. Coinvolte nel controllo del pH, nel meccanismo che regola la quiescenza degli spermatozoi e producono enzimi della famiglia della anidrasi carbonica.
- Narrow cells: dal 3% (testa) al 6% (corpo). Coinvolte nel trasporto di molecole verso il lume. Degradano nei lisosomi sostanze dannose per gli spermatozoi.
- Cellule chiare: 5% del totale. Coinvolte nella clearance proteica.

Lunghezza:

ratto: 3.4 m
ariete: 50 m
verro: 100 m

Suddiviso i testa, corpo e coda.

Epitelio (cellule basali e principali): secrezione ed assorbimento di proteine, endocitosi, controllo del pH (acidificazione), difesa immunitaria, fagocitosi e produzione di antiossidanti

La funzione è regolata da:

- DHT (cellule principali contengono 5 α -reduttasi),
- estrogeni (secrezione e riassorbimento)
- ossitocina (coniglio e uomo): regola la contrazione della componente muscolare liscia. L'espressione dei recettori per l'ossitocina è regolata dagli estrogeni,
- Vit. E: mantenimento struttura e funzione,
- sistema nervoso autonomo.

SPECIE	Testa e corpo	Coda	Totale
Verro	5.4 – 7.0	6.4	9.0 – 11.8
Toro	2.0 – 3.0	3.6 – 5.2	4.0 – 15.0
Ariete	2.1 – 3.6	8.3 – 12.8	10.4 – 16.4
Bufalo	3.2	6.1	9.3
Stallone	4.0	9.8	4.9 – 13.8
Coyote	-	-	14.0
Coniglio	3.0	9.7	6.6 – 12.7
Ratto	3.0	5.1	8.0 – 10.0
Topo	3.0	2.0	5.0 – 5.8
Hamster	2.0 – 5.0	8.0 – 13.6	15.0 – 15.6
Rhesus monkey	4.9	5.6	10.5
Uomo	1.8	3.7	5.5

Tempo (in giorni) di transito attraverso l'epididimo in differenti mammiferi.

Il passaggio attraverso la testa ed il corpo è reso possibile dalle contrazioni peristaltiche delle cellule muscolari presenti sul tubulo.

Nella coda le contrazioni della parete avvengono solo quando le cellule sono stimulate, in vista dell'eiaculazione.

Particolarità dell'ambiente epididimale:

1. Ci sono continui e progressivi cambiamenti nella composizione del milieu epididimale lungo il suo corso.
2. alcuni componenti si trovano esclusivamente a tale livello o vi si trovano in concentrazioni diverse da quelle sistemiche.

La specificità dell'ambiente è mantenuta grazie a:

- secrezione,
- riassorbimento,
- creazione di barriere alla diffusione (barriera emato-epididimale) grazie alle tight junctions delle cellule epiteliali.
- riguarda: temperatura, tensione di O₂, pH e disponibilità di substrati energetici.

epididimosomi

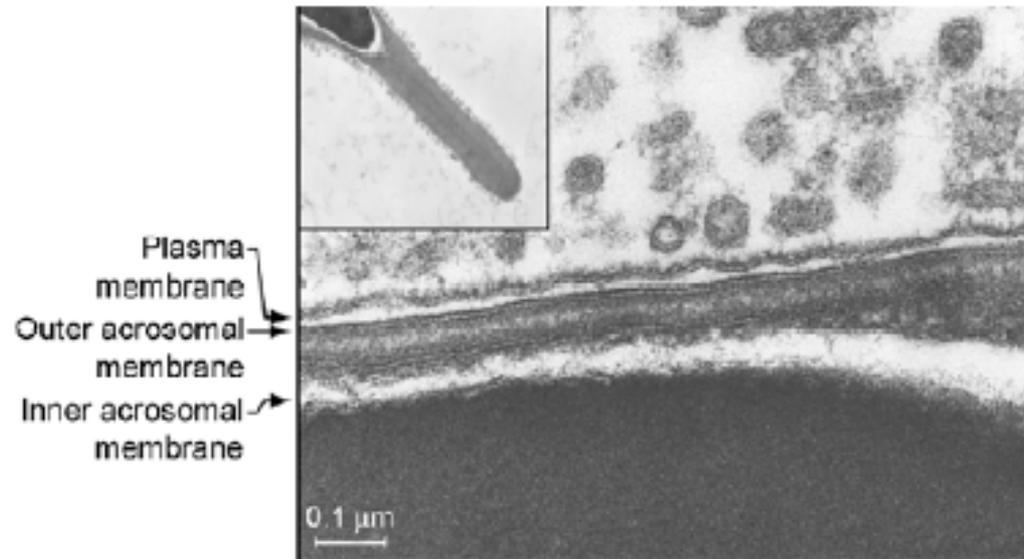


Figure 1. Electron photomicrographs showing Chinese hamster epididymosomes surrounding the plasma membrane of a spermatozoon. The inset shows the general appearance of the acrosome surrounded by these vesicles. Original photos were kindly provided by Dr Yanagimachi (University of Hawaii). Scale bar = 0.1 μm. Reproduced with permission from Saez *et al.* [29].

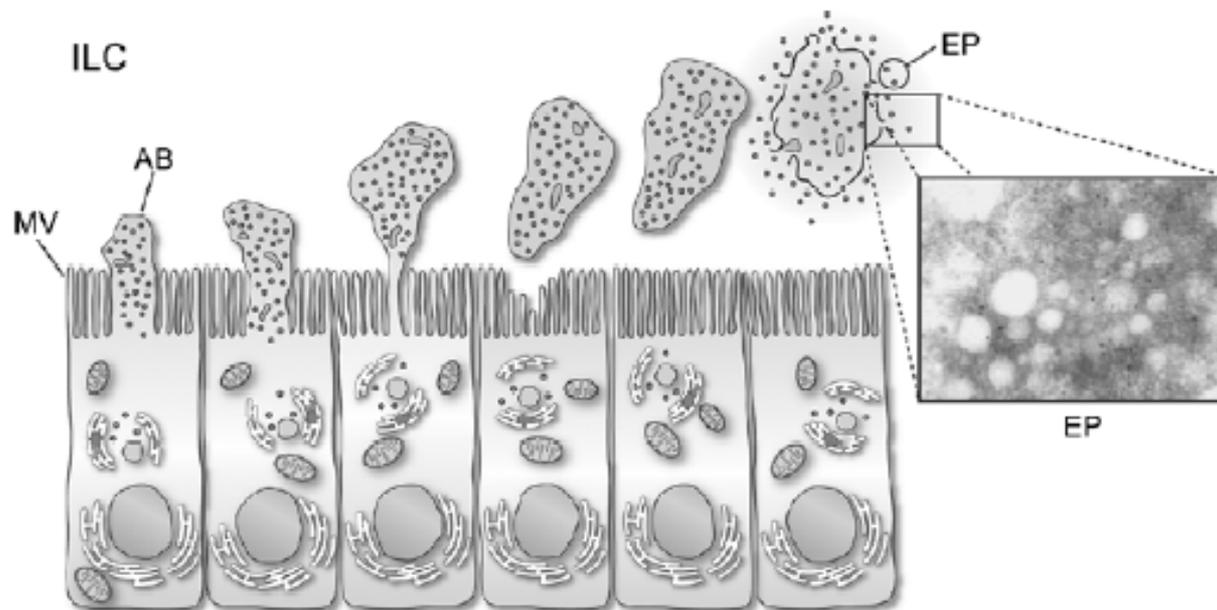


Figure 5. Schematic representation of apocrine secretion in principal cells of the epididymis. The inset shows electron micrograph of epididymosomes. AB, apical bleb; EP, epididymosomes; ILC, intraluminal compartment; MV, microvilli.

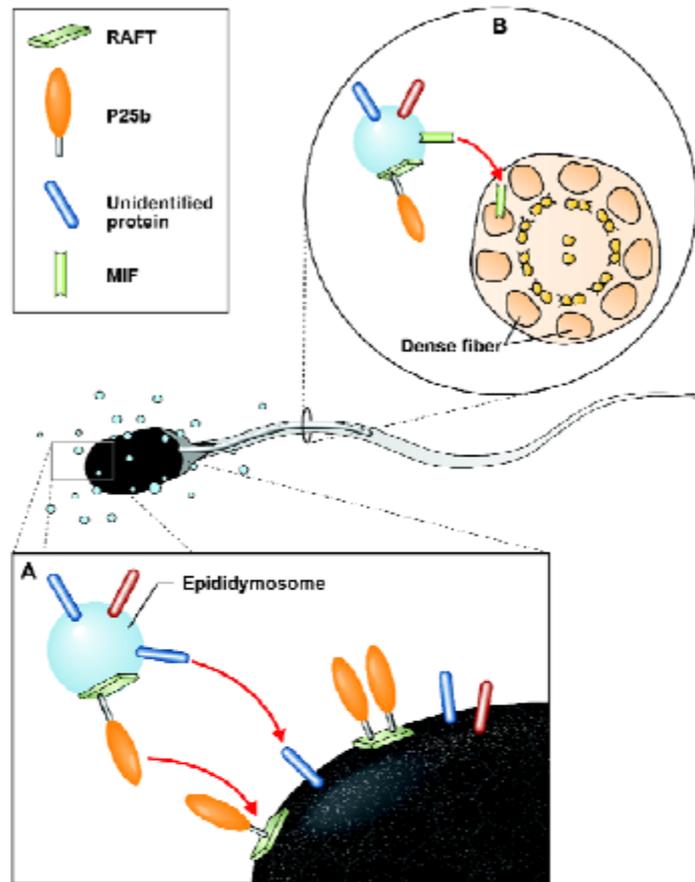
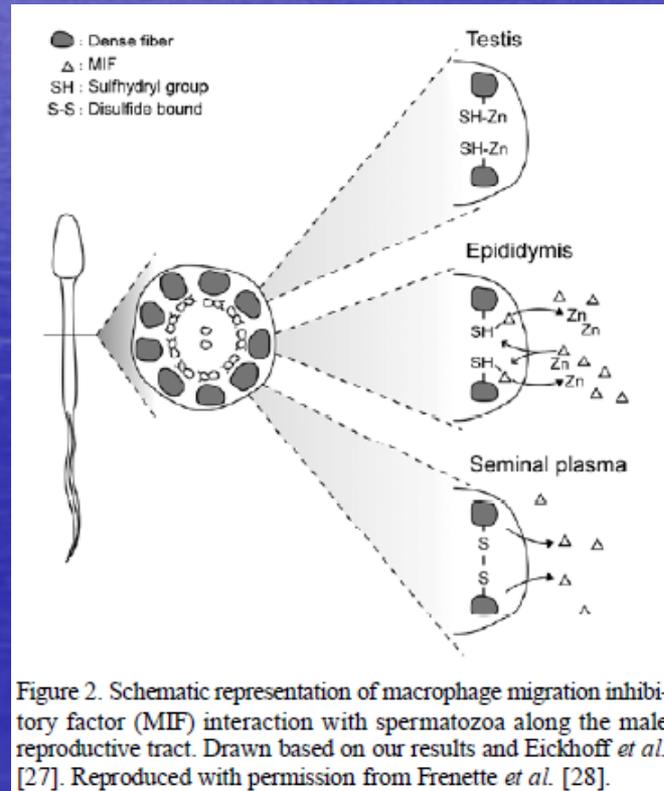


Figure 4. Schematic representation of protein transfer from epididymosomes to caput epididymal spermatozoa. In Panel A, the epididymal bovine protein P25b is mainly associated with lipid raft microdomains of epididymosomes and is transferred to the lipid raft microdomains at the sperm surface. Other unidentified biotinylated proteins are completely excluded from the lipid raft and are transferred at the sperm surface. These unidentified proteins are not associated with lipid rafts of spermatozoa. In Panel B, other proteins associated to epididymosomes, such as macrophage migration inhibitory factor (MIF), are internalized and linked to dense fibers of the sperm flagellum. RAFT, cholesterol and sphingolipid-enriched lipid microdomain.

Proteine epididimosomi

- P25b: coinvolta in interazione spz-ZP
- Macrophages migration inhibitory factor (MIF): chela lo Zn associato alle fibre dense degli spz, contribuendo alla formazione del flagello



- Aldoso reduttasi e sorbitolo deidrogenasi: coinvolte in metabolismo energetico e motilità
- HE5, GPX5, SPAM1,

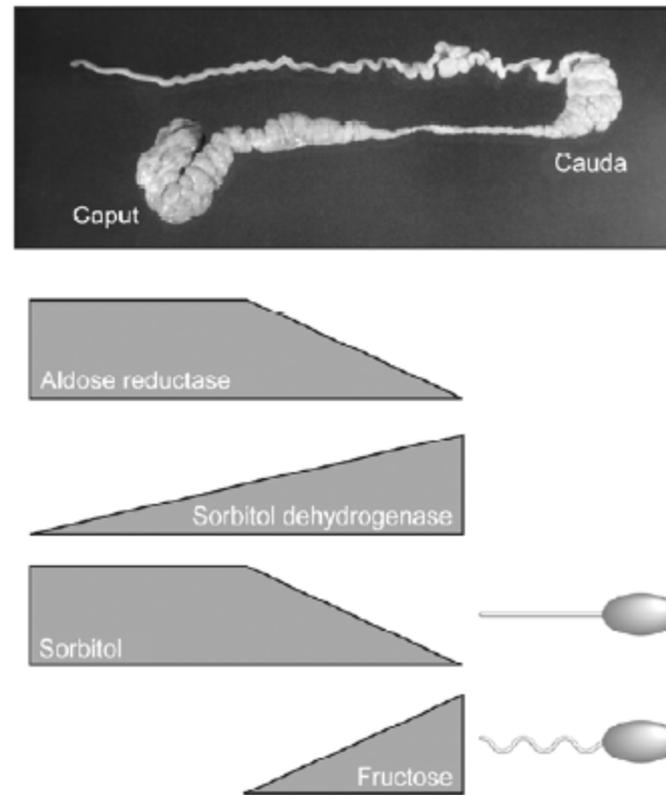


Figure 3. Schematic representation of aldose reductase and sorbitol dehydrogenase enzymatic activities along the bovine epididymis as well as the relative concentrations of sorbitol and fructose, two products of the polyol pathway. Sorbitol is hypothesized to deprive spermatozoa from energy sources to minimize sperm motility during the epididymal transit. Sorbitol dehydrogenase activity generates fructose in the distal part of the epididymis contributing to sperm motility restoration in the distal excurrent duct. Upper panel: a photograph of the bovine epididymis (Dr C. Reyes-Moreno, Université du Québec à Trois-Rivières, QC, Canada). Schematic representation of enzymatic activities is drawn from previously published results. Reproduced with permission from Frenette *et al.* [57].

CRES

- Cystatin-related epididymal spermatogenic (CRES)
- Prodotta da tratto iniziale epididimo

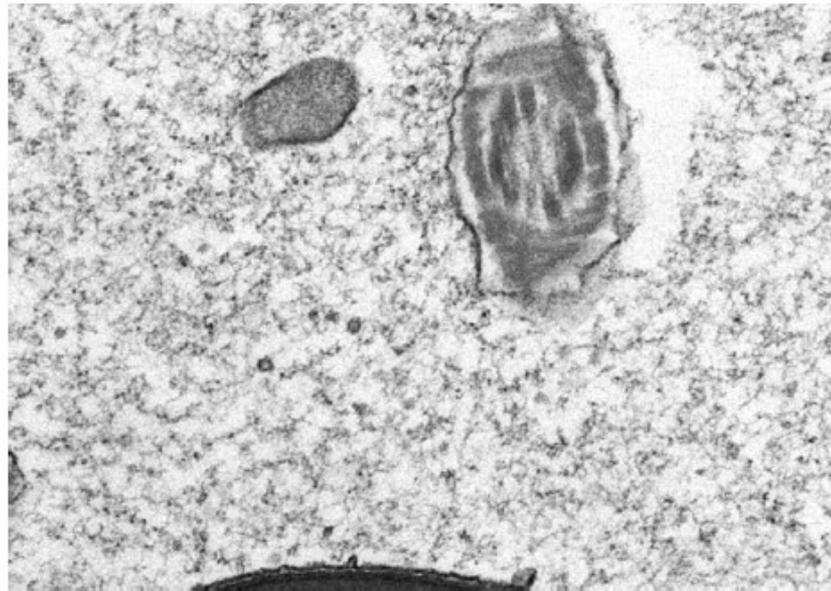


Figure 1. Transmission electron micrograph of the initial segment region of the mouse epididymis, showing particulate material within the lumen. Original magnification $\times 16500$. Micrograph kindly provided by A. Parent and L. Hermo, McGill University, Montreal, Canada.

PROTEINE

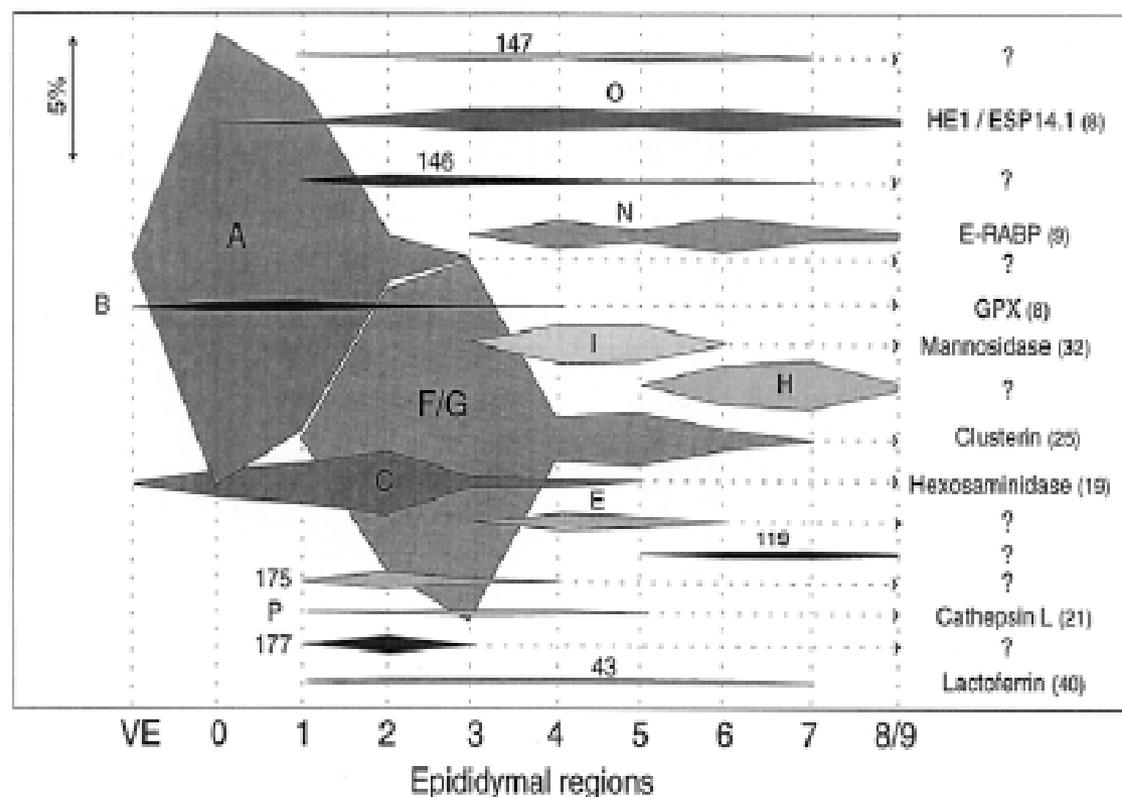
Tecniche di proteomica hanno consentito di caratterizzare diverse centinaia di proteine derivanti da:

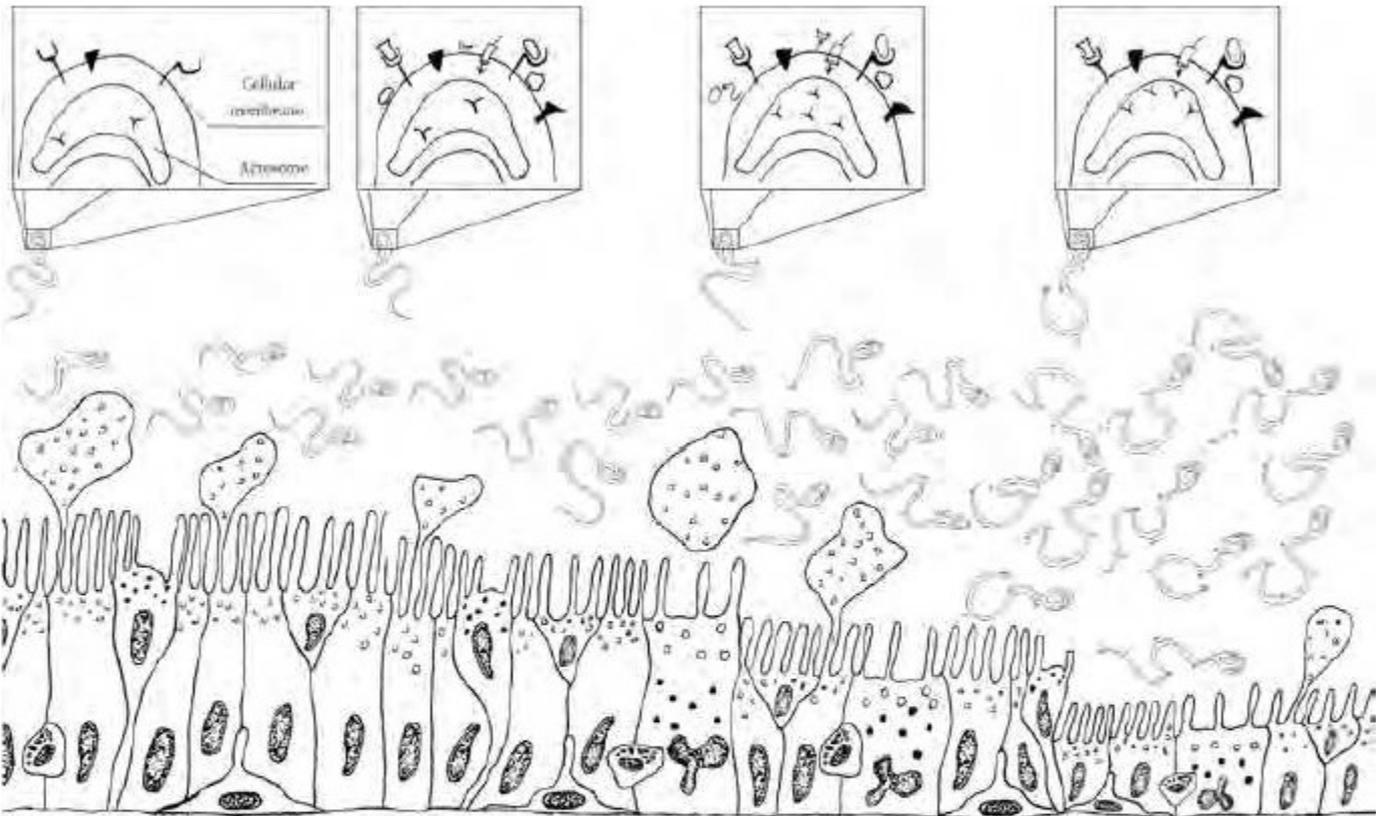
- rete testis,
- secrezione epididimale (oltre 100),
- proteolisi,
- metabolismo degli spermatozoi.

Responsabili del polimorfismo proteico del fluido epidurale sono:

- secrezione, riassorbimento e lisi cambiano da tratto a tratto.
 - la stessa proteina può andare incontro a modificazioni post-traslazionali diverse (ex. glicosilazione o lisi in siti diversi)
- la maggiore attività protidosintetica si ha a livello della testa.

FIG. 7. Repartition of major secreted boar epididymal proteins according to epididymal region and labeling intensity, expressed as a percentage of total labeled epididymal secretion (values given in Table 2). The numbers inside parentheses represent the number of cysteine and methionine molecules in the amino acid sequence of the protein.



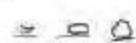


Initial segment

Caput

Corpus

Cauda

 <p>Surface receptors</p>	 <p>Surface receptors binding</p>	 <p>Transmembrane molecules</p>	 <p>Activated ion channels</p>	 <p>Bound molecules</p>	 <p>Short time molecules</p>	 <p>Acrosome molecules</p>
--	--	--	---	--	---	---

CONTROLLO SECREZIONE PROTEICA

- ~ 50% delle proteine è sotto il controllo (+/-) degli androgeni.
- 43% è modulato da fattori locali
- 6% risulta insensibile agli stimoli.

Il meccanismo di controllo regionalizzato dell'espressione genica dell'epididimo è sotto la regolazione del testicolo.

Rimodellamento membrane spermatozoo

Nello spermatozoo si verificano cambiamenti sia a livello di composizione lipidica della membrana che proteica.

Per quanto riguarda le proteine si può avere una perdita (legata alla proteolisi) od una ridistribuzione.

Sperm-binding proteins

- Low-binding proteins: probabilmente mascherano siti importanti successivamente nelle fasi della fecondazione oppure prevengono l'agglutinazione testa-testa degli spermatozoi. Probabilmente la diluizione degli spermatozoi è sufficiente ad allontanarle, facendone variare la concentrazione.

- Closely-binding proteins: rimangono fino alla fertilizzazione. Possono essere integrate nella membrana grazie alla presenza di porzioni idrofobiche.

LE PROTEINE EPIDIDIMALI POSSONO CONCORRERE A CAMBIARE LE CARATTERISTICHE DI MEMBRANA:

- FACILITANDO LA TRASLOCAZIONE DI PROTEINE O LIPIDI,
- MODIFICANDO LA COMPOSIZIONE E/O LA CONCENTRAZIONE DELLE PROTEINE GIA' PRESENTI.

- clusterin (o cholesterol binding protein) (HE1) sono coinvolte nel rimodellamento lipidico. La clusterina è la più secreta (25-30% di tutta l'attività secretiva nel verro).
- lipocaline (prostaglandin D2 synthase; PGDS): coinvolte nel rimodellamento lipidico.
- glicosidasi (mannosidasi, esosaminidasi, galattosidasi, glucosidasi, ecc...) sono molto concentrate.
- proteasi: catepsine (D,S e procatepsina L), metalloproteinasi varie (MMP 2-3-9) sono attive.
- ACE (?).

- Protezione dall'ossidazione: GPX
(assente nell'uomo)
 - protezione immunologica ed attività antibatterica: lattoferrina, HE4, HE2/EP2, Bin1b

RIMODELLAMENTO LIPIDICO

Gli spermatozoi hanno una composizione lipidica
differente da quella delle cellule somatiche.

Component
nmol/10⁸ cells

<u>Phospholipid^a</u>	37.0
Choline diacylglycerophospholipid	31.5
Ethanolamine diacylglycerophospholipid	12.5
Choline plasmalogen	20.0
Ethanolamine plasmalogen	8.5
Phosphatidylserine	6.1
Phosphatidylinositol	0.6
Phospahtidylglycerol	20.0
Sphingomyelin	2.1
Cardiolipin	138.3
Total phospholipid	

Fatty acids^a (Chain length: number of double bonds)

Saturated fatty acids	
Hexadecanoic (palmitic) (16:0)	105.5
Octadecanoic (stearic) (18:0)	35.9
Unsaturated fatty acids	
Octadecenoic (oleic) (18:1)	32.6
Octadecadienoic (linoleic) (18:2)	23.2
Icosatrienoic (20:3)	14.9
Icosatetraenoic (arachidonic) (20:4)	20.1
Docosahexaenoic (22:6)	108.0

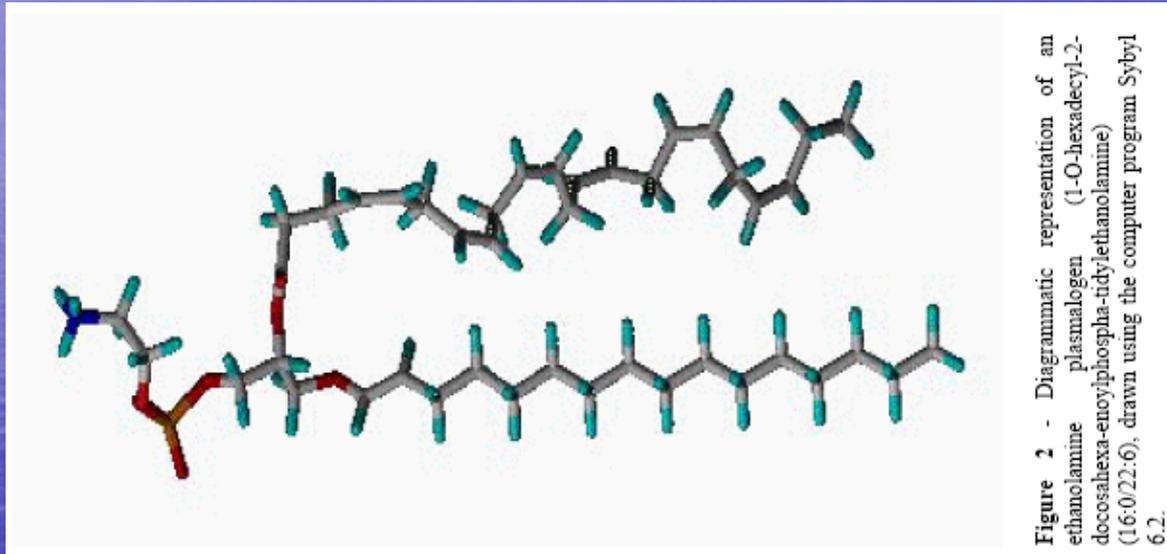
Sterols^a

Cholesterol	133.0
Desmosterol	78.5
Total sterols	211.5

Glycolipids^b

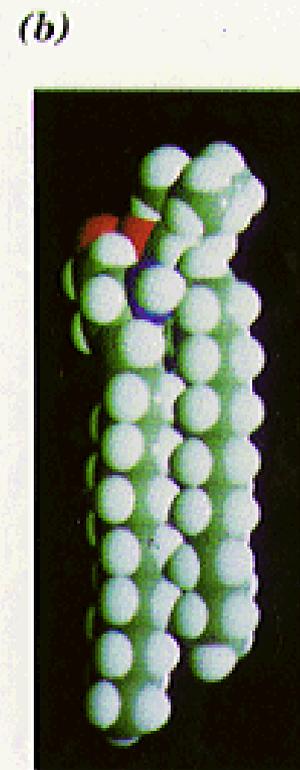
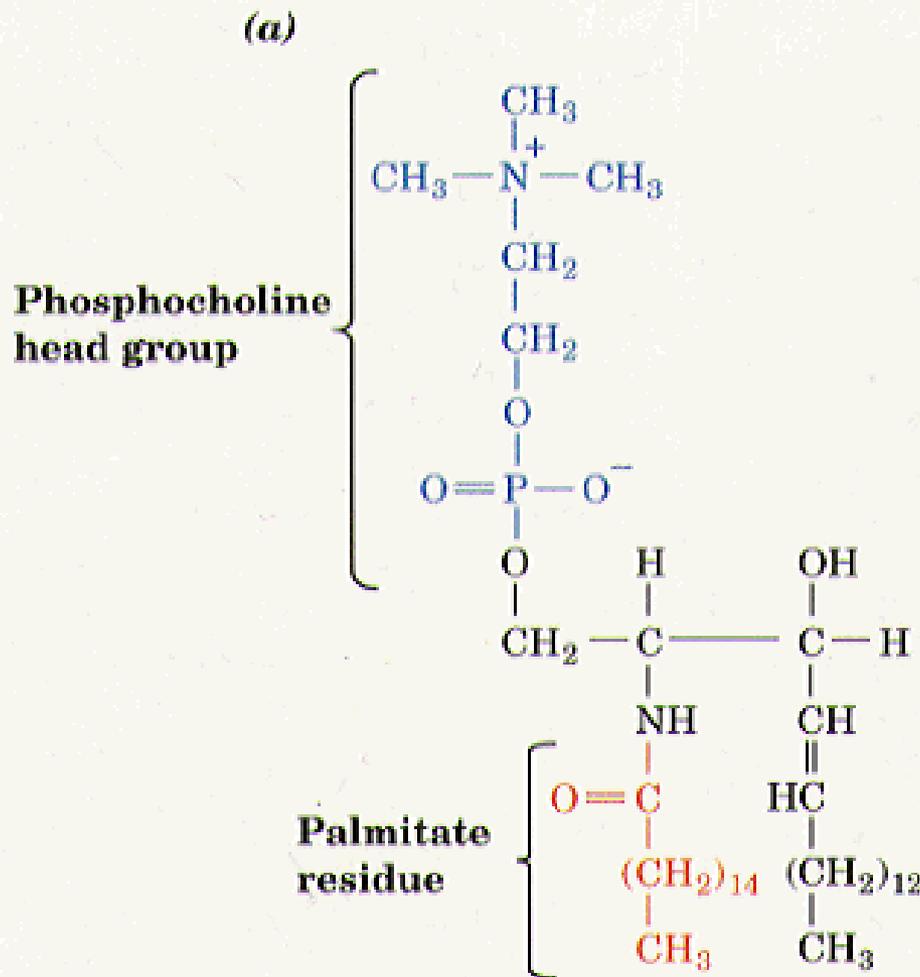
6.4

- hanno livelli molto più alti di ether-linked lipids e di acidi grassi insaturi come l'acido docosahexaenoyl (22:6).



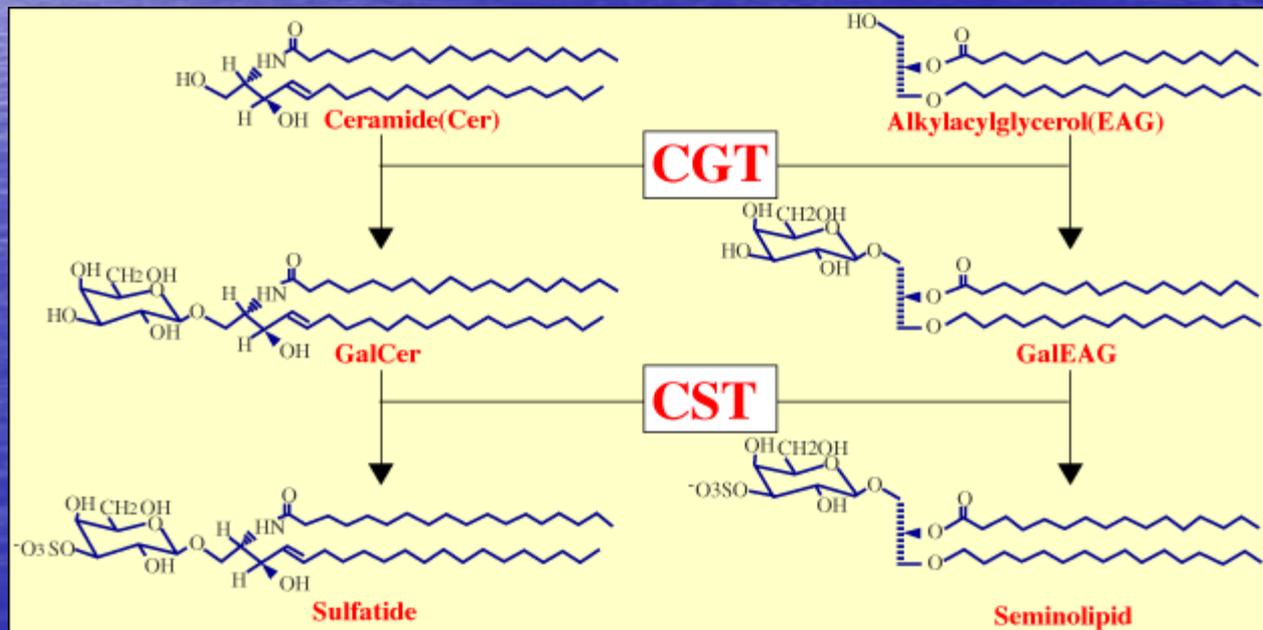
- il legame etere è molto resistente all'azione delle lipasi, per cui conferiscono resistenza alle membrane

- La sfingomielina è il maggior costituente delle membrane cellulari
- Rappresenta circa 80 – 97% di lipidi saturi.
- Conferisce rigidità alla membrana
- Interagisce (ponti H) col colesterolo

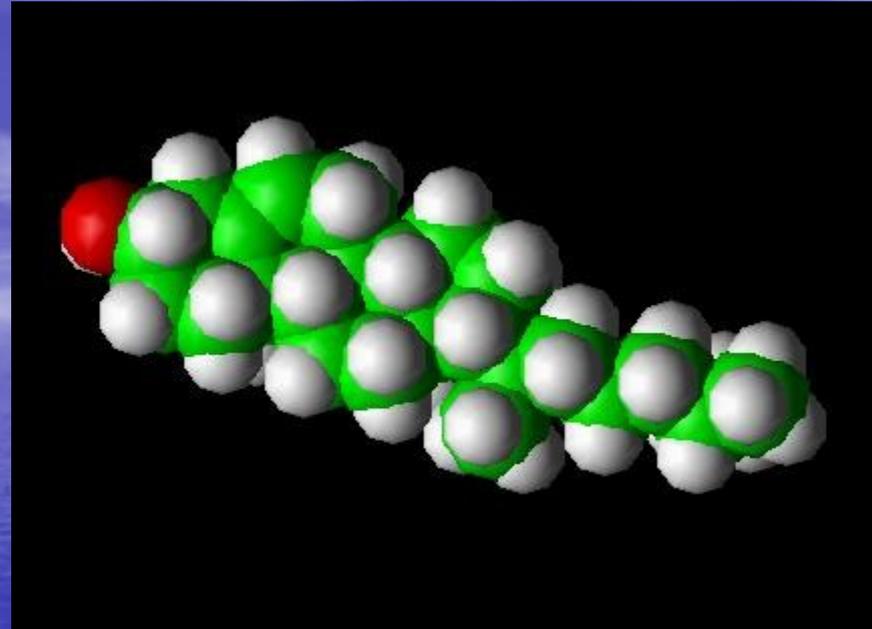
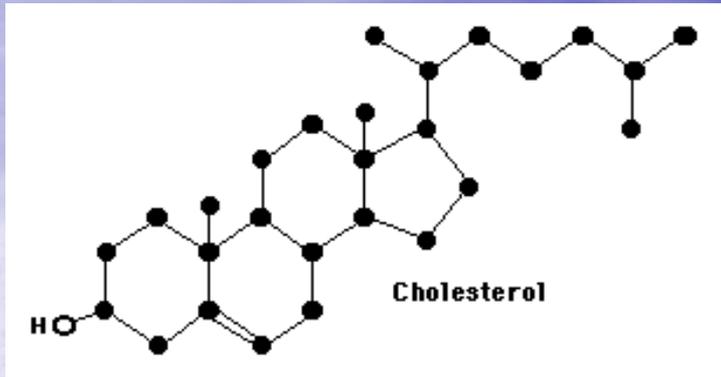


A sphingomyelin

- gli spermatozoi contengono un tipo di lipidi del tutto particolari: i solfogalattosilglicerolipidi o seminolipidi



- la composizione lipidica degli spermatozoi nella coda dell'epididimo è identica a quella degli spermatozoi eiaculati.
- complessivamente durante il transito epididimale si ha decremento della quantità di lipidi.
- il rapporto tra plasmalogeni/fosfatidil passa da 0.33 a 0.95
- i plasmalogeni diventano la classe di lipidi maggiormente presente.



Il rapporto colesterolo/fosfolipidi aumenta
2 volte durante il transito epididmale
Azione stabilizzante

Nell'hamster il colesterolo solfato aumenta
18 volte

Complessivamente aumenta la carica negativa sulle membrane (sialoglicoproteine, e lipidi anioinici come colesterolo solfato, solfogalattolipidi, cardiolipina).

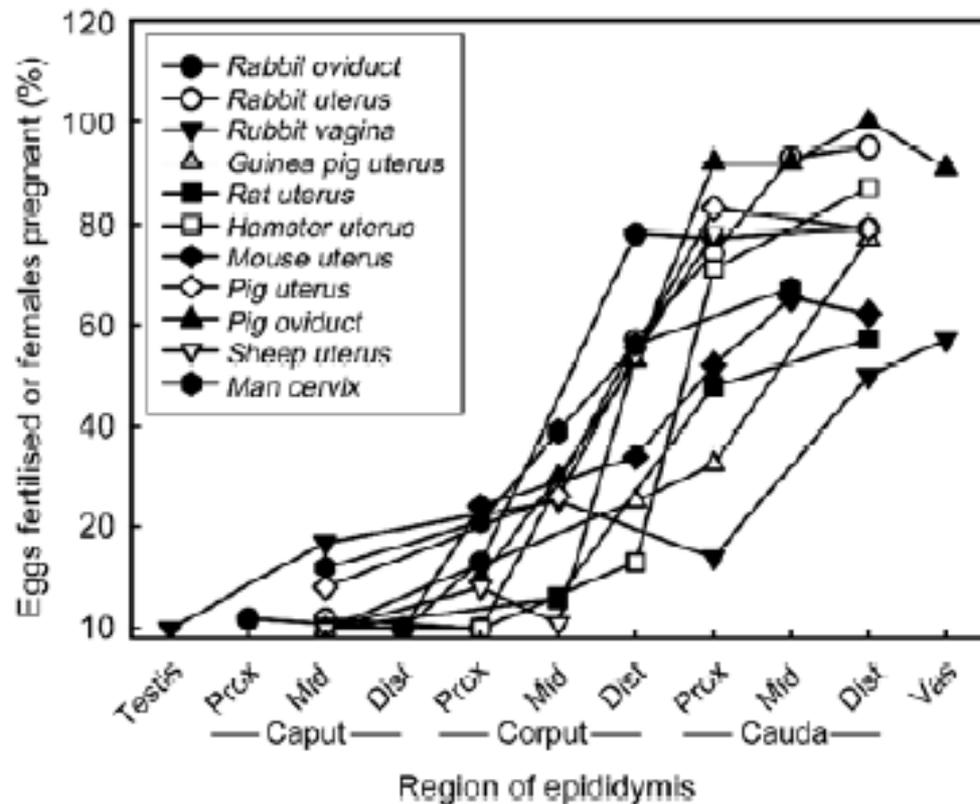


Figure 1. The fertilizing capacity of spermatozoa (ordinate) taken from different epididymal regions (abscissa) after insemination into the vagina, uterus or oviduct from various species.

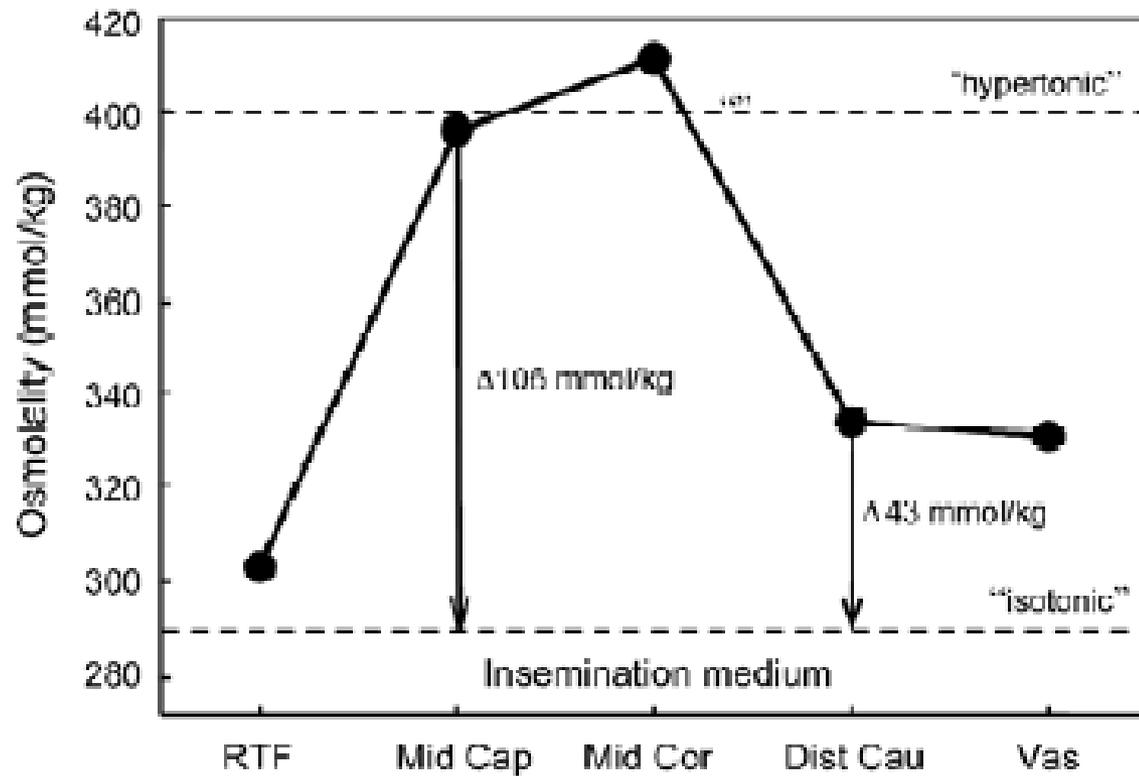


Figure 2. The osmolality of epididymal fluid (ordinate) from various epididymal regions of the hamster (abscissa). The osmolality of the insemination medium and that of fluids considered by many to be isotonic and hypertonic are indicated, as well as the osmotic challenge facing spermatozoa from the mid caput and distal cauda epididymidis.