

教师阅览室

SELECTED PAPERS
ON
PLANNED
PARENTHOOD

计 划 生 育 专 题 论 文 选 集



VOLUME

17

Research of Contraceptive Agents
for Male (III)

男 用 避 孕 药 研 究 (3)

E801
17

原书模制

外文书库

Selected Papers on Planned Parenthood

Vol. 17

3678

367

Research of Contraceptive Agents for Male

(III)



Dec. 1978

前 言

在对生命运动规律的探索活动中,生殖生物学是一个富有魅力的领域,这一领域是解剖学、组织胚胎学、发育生物学、生理学、内分泌学、细胞生物学与分子生物学等许多学科卓有成效的融合。现今,这一基础研究的成果正在越来越深刻地影响和指导着对我国实现社会主义四个现代化具有重要意义的计划生育科研工作。七十年代初,我们在广大计划生育科研工作者的要求与协作下,开始从大量的国外图书、期刊、会议录和难得资料中收集、筛选并汇编有关的重要文献,出版了“计划生育专题论文选集”。本卷是继“选集”的第六、十一两卷后,选编的第三本“男性避孕研究”专辑,汇集了从1975年至今的重要文献。该卷的特点是基础研究和应用研究的内容并重,且在篇幅与编排顺序上尽量体现出前者对后者的指导。

• 随着男科学的兴起,国外对男性生殖的基础研究已迅速向纵深发展,估计在近十年内会有所突破。男性生殖过程可大致分为精子发生、精子成熟、精子排放和受精等几个阶段,整个生殖过程受下丘脑——垂体——性腺轴所分泌的各种激素调节控制。其中研究得最广泛的是精子的发生,近年来尤其对支持细胞(Sertoli Cell)结构与功能的研究日趋活跃,在这方面,我们选择了三篇具有代表性的文献,其中一篇是关于支持细胞研究的全面综述。

对精子成熟过程的了解尚待深入,但是干扰精子成熟的功能性不育药物是比较理想的男性避孕途径,为此,本卷以一定篇幅介绍了指导这一研究的理论知识。

精液生化研究在国外已普遍开展,但在我国尚处萌芽期,对精液中各种成分(如:肉毒硷、精胺等)与生育关系的研究,以及分析正常人与不育患者之间精液组分的差异,或能启发人们去开拓男性避孕研究的处女地,书中对这方面内容的选编也给予应有的重视。

对于男性生殖活动的激素调节,目前已着手从细胞水平与分子水平来阐述其作用机理,我们选入了四篇有一定质量的论文,以反映这一研究领域的现状。

至于对男用避孕药物的研究,虽已广泛开展,可是仍处于探索性的阶段,至今尚无理想的药物问世。我们选载了两篇水平较高的关于男用避孕药的去、现在与未来的综述文献,俾使读者鸟瞰全貌,展望未来。对庚酸睾丸酮、醋酸赛普龙、5 硫代葡萄糖、 α -氯代甘油等正在深入研究的药物,各选一篇代表性的论文,概括其研究进展。

值得一提的是国外对外用杀精剂、影响射精的药物及超声波节育等方法的研究又复燃热情,我们选入了有关的文献,以引起我国计划生育研究者的注意。

实验方法的革新,往往是研究工作进展的先导,编者注意并选入了这方面的有关文献,供读者参阅。

本卷共选入国外论文 29 篇,目的在于洋为中用,有所借鉴。限于水平,难免疏漏与不足,希望读者提出宝贵意见,俾使渐臻完善。

本卷承上海第二医学院王一飞同志、中国科学院上海细胞生物学研究所戴荣禧同志、上海计划生育科学研究所曹霖同志、上海市第六人民医院李效忠医师等热情支持,大力协作选编,谨表谢意。

编 者

1978. 12

中 文 摘 要

睾丸的功能形态学

本文重点描述猴睾丸曲精细管中生精细胞的分化过程。文中描述了三种精原细胞, 精母细胞减数分裂及精子细胞变态的一些变化。着重描述了精子发生过程中, 细胞内平滑内浆网的分化; 精子细胞变态阶段中平滑内浆网的形态结构; 并认为这些变化与精子细胞变为精子的过程有关。作者用辣根过氧化物酶示踪的方法观察了血睾屏障, 发现细丝期精母细胞仍然位于基部小室内, 故减数分裂可以从基部小室的环境中开始进行。最后作者介绍了一种研究曲精细管中各种细胞的相对体积比例的方法, 作者发现Sertoli 细胞约占曲精细管体积的 $1/3$ 到 $1/4$ 。

支持细胞的超微结构和功能

本文首先叙述了支持细胞的一般超微结构特征, 然后对支持细胞可能产生类固醇功能、在精子释放中它们的参与、在维持血睾屏障中它们的作用和支持细胞的分泌功能等问题进行了讨论。

哺乳动物精子的结构

哺乳动物的精子尽管形态不一, 但其基本结构相似。本文较系统地叙述了精子几个主要节段的结构特征:

1. 精子头: 核, 顶体
2. 精子颈部
3. 原生质小滴
4. 中段: 鞭毛, 线粒体, 致密纤维
5. 环
6. 主段及末段: 纤维鞘及末段

文中有数张模式图及电镜照片。

精子在附睾中的成熟, 转运与归宿

附睾头部的精子并无生育力, 精子在附睾中经历一个成熟过程, 最后才获得了受精能力。

本文首先介绍了精子在附睾内成熟过程中的主要变化: 1) 获得了前向运动的能力; 2) 代谢方式改变; 3) 尾部细胞器及核染色质结构改变; 4) 细胞膜的改变; 5) 胞浆小滴的丢失; 6) 某些动物精子成熟过程中还有顶体的改变。然后, 文中叙述了附睾在促进精子成熟中的作用, 也讨论了性激素对精子成熟的促进作用, 但关于这个问题还未阐明。最后介绍了对附睾精子最终结局的几种不同看法。

精子在附睾转运中的代谢改变

附睾是精子成熟的场所, 精子在附睾中运行, 其生化代谢有一系列改变, 现在认为这种代谢改变与精子的功能成熟有密切关系。本文首先介绍一种插管的方法可以收集活体内附睾及睾丸中的精子, 用以研究其代谢区别。本文先比较了睾丸精子与附睾尾精子在代谢上的区别, 主要表现在呼吸率、糖酵解及戊糖循环三个方面。然后介绍在体外将睾丸精子贮存以后的代谢变化, 主要描述了呼吸率、糖酵解, 高能磷酸化合物, ATP 酶活性及活力, 并将之与附睾中成熟精子相比较。由于精子成熟过程中需要雄激素, 故本文还阐述了雄激素与糖酵解的关系。最后讨论了精子在附睾运行中脂类代谢的改变, 由于精子在附睾中利用脂类作为能源, 故这方面的研究有其特殊意义。

哺乳动物附睾的比较生理学

本文是一篇关于附睾机能的卓越综述。哺乳类的附睾是一个代谢十分活跃的器官, 可以合成并分泌许多物质: 涎酸(涎酸粘蛋白), 脂类, 甘油磷酸胆碱, 肉毒硷及甾体。附睾的分泌物与精子成熟密切相关。附睾各段的分泌活性不

同,且受年龄、雄激素及精子的影响。精子在附睾运行过程中,磷脂量减少,它作为精子代谢的基质以获取能量。附睾尾液中存大量肉毒硷,可能与脂肪酸氧化有关。许多动物附睾均能分泌涎酸。精子在附睾运行过程中,其结合涎酸量下降,而附睾液中结合涎酸量增加。涎酸的存在与精子成熟及功能的维持有密切的关系。附睾能活跃地合成甾体并分泌甾体。附睾也能代谢雄激素。附睾正常机能的维持不仅取决于游离睾酮及其代谢产物的量,而且也取决于雄素结合蛋白的存在。

猴附睾的微细结构

猴的附睾可以分为4部分:起始节(与输出管相连),头段、体部和尾段。起始节有很高的柱状上皮($108 \pm 4 \mu\text{m}$)。头段、体部和尾段的上皮高度分别降低为 $81 \pm 5 \mu\text{m}$, $69 \pm 2 \mu\text{m}$ 和 $50 \pm 5 \mu\text{m}$ 。假复层上皮由4种主要细胞类型组成:主细胞,顶部和基部上皮细胞以及上皮内的淋巴细胞。偶尔在上皮中也能见到吞噬细胞。高而窄的柱状主细胞表现出吸收和分泌特性的形态学特征。其不同于高等灵长类的特征是在细胞质顶部出现深的内陷,该处含有有膜的囊泡。同样的但更大些的囊泡出现在静纤毛之间以及管腔里。大簇的线粒体和电子浓密而有膜的颗粒为细胞质核下区的特征。主细胞的游离缘布满紧密排列的静纤毛。起始节和头段前部的主细胞核呈纺锤形,但在头段末端、体部和尾段的立细胞核由于核膜内褶而呈现分叶状。顶部细胞或富于线粒体的细胞的细胞质极长,从上皮基部一直延伸到管腔。基部细胞含有少量的细胞器。小动脉和毛细血管从下面的结缔组织直接穿入上皮;但附睾管的基膜常常介于血管内皮和上皮之间。上述观察中有些是在啮齿类和其它哺乳类未曾注意到的,且可能不同于高等灵长类。

精液的生化

本文综述了精液的化学组成。首先叙述了精子各段的化学成分:核,顶体,胞浆小滴,中段及尾;然后分别介绍睾丸液,附睾液及精浆的化学组成。在附睾液的化学组成中,着重介绍了甘油磷酸胆硷及肉毒硷;在精浆的化学组成中,着重介绍了前列腺素,糖蛋白及两种新发现的肌醇的衍生物。作者认为精液的生化研究与精子形态的显微镜观察结合可作为研究男性生殖生理与病理的重要手段。

哺乳动物精子的获能:生物学与实验研究现状

本文是一篇关于精子获能的卓越综述。作者在回顾了精子获能发现简史以后分两大部分论述了精子的获能过程:第一部分介绍了参与精子获能的诸种因素,特别强调了雌性生殖道,激素水平及雄性生殖道内的去能因子;第二部分介绍了精子在获能过程中发生的变化,包括代谢活性及精子的表面特性的改变;接着又叙述了精子的顶体反应以及精子穿透卵丘和透明带的过程。

氧化型多胺对人精子代谢作用的机理

人精液中存在高浓度的精胺。人精液中也存在胺氧化酶。此酶将多胺氧化为脍醛类。这种氧化产物对人的精子代谢有毒,它是一种果糖分介的非竞争性抑制剂。此种脍醛可严重干扰精子摄取果糖与乳酸,它并不是抑制糖酵介中某一个酶,而是与精子膜发生了反应,干扰了精子膜的正常机能。

近年来发现,不育患者精液中胺氧化酶活性高,并表现为精子活力下降。此酶活力已可作为鉴定不育的指标。

研究氧化型多胺对精子的作用,不仅可能找到一些新的杀精剂,还可以藉此研究精子膜的结构与机能。

人附性器官中的肉毒硷含量

肉毒硷在肝内合成,然后可浓集在附睾精子上。肉毒硷可帮助活化的脂肪酸通过线粒体膜。本文报导外科手术中取下的人体各种组织内肉毒硷的含量,结果表明附睾中的肉毒硷含量高于睾丸、输精管、前列腺及精囊。并未发现睾丸中睾丸酮的水平与附睾中的肉毒硷含量间有什么关系。附睾中肉毒硷量比血浆大 $10 \sim 50$ 倍。

精液中的肉毒硷主要来自附睾,有小部分来自精囊。应当继续研究肉毒硷与精子受精力的关系。

间质细胞

作者对近三百篇文献进行了综述,叙述了四方面的内容:(一)首先简要地介绍了有关间质细胞功能研究的历史。(二)间质细胞的细胞生物学,在雄激素的生物合成和分泌作用中细胞器的作用。(三)间充组织。(四)在哺乳动物上间质细胞的变化,包括种的变化,季节性变化和胚胎时期以及青春发育的变化。

精子发生的激素调节

本文回顾了有关精子发生激素调节的实验资料,着重介绍了近期研究的结果。主要注意力放在多肽激素和甾体激素类的相互作用及其在靶细胞内的定位。大部分实验是在小动物上进行的。

总的看来,雄激素对精子发生起着重要的刺激作用。间质细胞生产睾丸酮是受促间质细胞激素(ICSH)调节的。间质细胞的发育和产生甾体的功能,可能需要睾丸酮或双氢睾丸酮的直接作用。促乳素和促卵泡生长素增加间质细胞的反应能力,而雌激素似乎抑制间质细胞对促间质细胞激素的关于甾体生成作用反应。

雄激素刺激管周细胞的分化和曲精细管收缩能力的发育。

雄激素和促卵泡生长素调节支持细胞(Sertoli Cell)的功能。似乎有理由认为,许多激素对精子发生的作用是通过支持细胞为媒介的。

睾丸酮, 5 α -双氢睾丸酮, 3 α -雄烯二醇和 3 β -雄烯二醇对家兔附睾精子在器官培养中成熟的影响

用人工授精的方法测得家兔附睾管中的精子的受精能力在器官培养中可维持1~7天。作者发现,在培养之前已经具有使卵子受精能力的附睾体远心端精子的这种能力不附加激素可以维持1天;当在培养液中添加睾丸酮(0.5微克/毫升)或5 α -双氢睾丸酮(0.5微克/毫升)时可以维持3~4天。附睾体近心端的精子在培养之前不能使卵子受精,在不加激素的条件下,培养1天之后依然为故。在近心端附睾体的培养液中加入0.5微克/毫升浓度的睾丸酮,5 α -双氢睾丸酮、3 α -雄烯二醇或3 β -雄烯二醇,只有5 α -双氢睾丸酮组受精百分率比不加激素所得到的百分率明显增加。胰岛素不增强5 α -双氢睾丸酮对精子受精能力的效应。上皮生长因子无效。附睾头段的精子在培养条件下保持1~4天仍无受精能力。

雄激素分泌调节过程中各种激素的相互作用

毫无疑问,哺乳动物睾丸合成雄激素依赖于垂体的促性腺激素,尤其是LH对于间质细胞功能的维持是绝对必需的。然而大量事实证明,睾丸合成雄激素受许多垂体激素的复合调节控制,其中较为重要的是FSH及PRL。当然GH, ACTH及TSH也可能有一定的调节作用。这并不是一个全新的概念。垂体对睾丸的调节与垂体对卵巢的调节很相似。故研究女性这一垂体性腺轴以及女性激素受体的方法也可以作为研究睾丸由分泌机能时的借鉴。最后作者指出各动物的调节机制可能存在种族差异。

男性生育控制的讨论

这是1974年在印度新德里召开的一次国际男用避孕药讨论会的综合讨论内容。会上评述了抗精子发生药物的优缺点;对甾体男用避孕药的现状及发展趋势作了评述;对抑制素能否用作男用避孕药各持异议;与会者认为影响精子成熟的药物比较理想,对醋酸赛普隆及 α -氯代甘油的前途也作了评价;对其他可能采用的避孕途径也分别加以探讨。会上对衡量精子功能的指标也进行了讨论。总之,这是一篇对男用避孕药现状与未来的较为全面的评述,有较大的参考价值。

国际男科学会议中关于男性精液及生育力调节的综合报导

国际男科学会议于1975年4月在美国密执安州底特律城韦恩州立大学医学院的人类生长与发育研究中心召开。会上宣读了由165个作者写的85篇论文,与会者有美、英、瑞典、瑞士、加拿大、丹麦、德、法、日、澳、南非等近二十个国家的男科学家。会议论文涉及以下十一个专题:睾丸与附睾生理学;精子的功能解剖学;精子的能动性;精液;精液旦白酶及其抑制剂;内分泌男科学;免疫男科学;神经男科学;临床男科学(包括诊断、内分泌、治疗与外科);人工授精与男性避孕等。

醋酸赛普隆对正常男子生殖机能的影响

醋酸赛普隆是一种孕激素的衍生物,它具有抗雄激素作用。高剂量醋酸赛普隆抑制人和大鼠的性欲和精子发生;低剂量的醋酸赛普隆也能抑制睾丸和其它附性腺的机能,改变附睾内环境,从而降低了精子的能动性和活力,并损伤附睾精子顶体的完整性,影响其受精能力。

本文作者对18名20~40岁的健康的男子进行了试验,每天给药5或10mg,连续服药20周以上。试验结果为:精子数目减少,精子能动性减弱,同时非能动与未成熟精子的百分率却增高,而精子对宫颈粘液的穿透力也明显降

低。精液中酸性磷酸酶、唾液酸、磷酸甘油胆硷水平逐渐降低,而果糖水平却不显示变化。醋酸赛普隆不影响性欲和性功能,不影响 SGOT, SGPT, 血浆硷性磷酸酶,血液尿素等水平。文内对醋酸赛普隆的作用部位和作用方式及其作为男用避孕药的可能性也进行了讨论。

5-硫代-D-葡萄糖对离体大鼠睾丸各类细胞蛋白质合成的影响

5-硫代葡萄糖是一种葡萄糖的类似物。此药可使小鼠及大鼠精子发生过程受到阻抑而避孕。精子发生过程中,精子细胞的代谢密切依靠葡萄糖作为其能源。本文即研究体外培养中大鼠睾丸内各类细胞的蛋白质合成,并观察 5-硫代葡萄糖对各类细胞蛋白质合成的影响。本文证实了葡萄糖可以刺激精子细胞的蛋白质合成,而加入 5-硫代葡萄糖可以抑制精子细胞及精母细胞的蛋白质合成。5-硫代葡萄糖的避孕作用可能与它对蛋白质合成的抑制有关。

雄性抗生育剂 α -氯代甘油的作用方式

本文报导 α -氯代甘油对公羊精子的糖酵解与三羧酸循环代谢的影响。 α -氯代甘油对糖酵解的作用主要在磷酸丙糖到丙酮酸形成之间的环节。对甘油的氧化也有抑制作用,但抑制程度不及对磷酸丙糖的抑制。另一个抑制作用的部位是由内源性及外源性脂肪酸形成乙酰辅酶 A 的环节,对此部位的抑制作用也不太强。 α -氯代甘油还可以使精子中大部分的 ATP 转变为 AMP。用 3mM α -氯代甘油与公羊精子一起孵育, 3-磷酸甘油醛脱氢酶及磷酸丙糖异构酶的活性分别抑制 90% 及 80%, 有时可见醛缩酶活性也被抑制。随着 3-磷酸甘油醛脱氢酶活性被抑制可见精子活力下降。活体内注射后的测定,也有类似的结果。注射后一个月,糖酵解中间产物的浓度恢复到正常水平,但 ATP 仍然只有注射前的 38%,而精子活力却已恢复如前。作者认为 α -氯代甘油进入体内产生一个未知的中间代谢产物,由它产生抑制效应。

醋酸甲孕酮与庚酸睾丸酮作男用避孕药的研究

当今不少男用避孕药的研究者试图通过抑制促性腺分泌来达到抑制精子发生的目的,已有不少人应用低剂量孕激素类药物与雄激素的复合药来抑制促性腺分泌。因为这两类药物均能抑制促性腺,而且副作用小。醋酸甲孕酮和庚酸睾丸酮都具有长效作用的特点,可用来研制每月一次的注射剂。

本文作者选择了 14 名健康男子受试,用 100 mg 或 150 mg 的醋酸甲孕酮与 200 mg 庚酸睾丸酮配伍连续肌注 4 个月。结果表明,所有受试对象的促性腺分泌均受抑制,精子数目减少,10 个人的精子浓度低于 5 百万/毫升,2 个人达到精子缺乏。停药后 16 至 41 个星期才恢复用药前的精子浓度,用药期间性欲正常,但有 1 例发生乳房女性化。作者认为本实验的用药剂量对作为男用避孕药来说,可能还是低了一些。

5-氨基吡唑对大鼠的抗精子发生作用

大鼠口服 5-氨基吡唑的剂量为 200 mg/kg/周,用药两周。睾丸重量迅即下降,切片下可见生精细胞广泛剥落,生精严重抑制,可达到持久性的不育。由此可见此药物为一抗精子发生药物,对垂体促性腺素分泌无作用,其作用机理有待进一步研究。

一些药剂对射精的影响

本文报导九例患者用抗高血压药物以后,性功能,性欲高潮及性交频率均未改变,但均不射精。手淫后的尿液中无精子,说明药物作用于精囊、壶腹及输精管使之不收缩,而不是逆流性射精。

本文进一步分析了男子勃起,性欲高潮及射精的生理机制,作者认为一些 α 受体阻滞剂有可能成为可逆性的男用避孕药。

超声波——一种新的男性节育方法

超声波在物理医学和妇产科学中已广泛地被用于诊断和治疗,现又发现它能有效地抑制精子发生,在摄氏 39 度条件下,超声波对雄鼠精子发生的抑制效率较之红外线和微波都高。其作用原理是:超声波具有热和机械的综合效应,这种综合效应引起曲精细管液与睾丸网液之间的离子交换,从而造成一个不利于精子发生的环境。本文报道了在雄性猫、狗、猴和男人中进一步研究超声波绝育的实验结果。实验结果提示,用一定剂量的超声波处理后,上述实验动物和人的精子发生均被明显抑制,但对间质细胞和血浆睾丸酮水平却没有影响。

用人精子的剥脱技术作为筛选体外杀精剂的方法

本文介绍了一种体外杀精药的筛选方法。加入药物以后,观察精子胞浆的剥脱程度,以此作为药物疗效的指标。逐步增加药物剂量,直至精子胞浆完全剥落,只剩下核及尾部的核心。用此法筛选了五十二种药物,其中十四种可使胞浆完全剥脱。十一种引起部分剥脱。还有四种使精子肿胀。此筛选方法不能用于代谢细胞毒类药物的筛选。

运用沉降速度分步法分离小鼠的各种生精细胞

本文详细介绍了分离小白鼠各种生精细胞的方法。首先以动脉灌注生理盐水法除去全部血球。用胶原酶除去曲精细管之间的间质细胞,得到纯的曲精细管。再以胰蛋白酶消化生精上皮得到含有各种分离的细胞悬液。根据各类细胞大小(重量)不同,在不同浓度的牛血清白蛋白生理溶液中沉降有快有慢,将生精细胞大体上分为三个部分,即粗线期精母细胞部分,圆形的精子细胞部分和残余体部分。经活体染色、细胞氧耗测定以及光学和电子显微镜的形态学观察,表明分离后的细胞绝大多数是活的、完整的。

存在的问题是各个部分并非绝对属于同一类型的细胞,而是有一定的参差。由于合胞体的存在,是不能得到纯属某一类型细胞的重要因素。例如,没有分开的双核精子细胞因其体积相当于次级精母细胞而会被分离在精母细胞部分。但各个部分的一种主要细胞类型约占80%以上。

大鼠生殖道灌注法:研究雄激素分泌与作用的一种模型

本文报导大鼠睾丸和副性器官灌注法,提出了对这一方法的评价,并报告了用该法研究睾丸酮分泌和在副性器官的核内结合雄激素的初步结果。

从清醒公羊收集得到的附睾尾液的特征

本文介绍了一种收集清醒公羊附睾尾液的方法,收集管可留置一百三十六天,以便长期研究附睾的机能。采用此法收集的液量与收集的频率成反比,但精子的浓度较为恒定。化学分析证实附睾尾液中有数量不等的乳酸、痕迹量的葡萄糖,肌醇量为睾网液中的十分之一;但附睾尾液中有高浓度的磷脂,孕烯醇酮,雄素结合蛋白及 5α -双氢睾酮。作者认为磷脂有利于延长精子的寿命,可以作为能源。磷脂加上雄激素及其他未知因子还可以促进精子成熟。

在体外将睾丸精子保存在附睾尾液内可以维持其代谢活性及其细胞完整性。在附睾尾液中培育十四天后,睾丸精子的糖酵解方式与射出精子相似。

用活性染料作精子顶体一步分化染色法

本文介绍一种简便的顶体分化染色法。作者推荐将精子涂片以无水酒精固定五到十分钟,然后用1%新鲜配制的 Procion Printing Green B. 及 Procion Brilliant Red M8BS 染色十五到三十分钟。染色结果:顶体亮绿色,头部粉红色,核后区深红色,赤道区为深红色带,颈部几乎不着色,质膜为线绿色的轮廓,尾部为线绿色,若有胞浆小滴存在则深成深绿色。

CONTENTS

目 次

Spermatogenesis: Structure & Function of Testis

精子的发生: 睾丸的结构与功能

Functional Morphology of the Testis

睾丸的功能形态学

(*Biology of Reproduction*, Vol. 18, No. 1, p. 1-15, 1978)

Ultrastructure & Function of the Sertoli Cell

支持细胞的超微结构与功能

(*Handbook of Physiology*, Sec. 7: *Endocrinology* Vol. V: *Male Reproductive System*, p. 21-56, 1975)

Mammalian Sperm Structure

哺乳动物的精子结构

(*Handbook of Physiology*, Sec. 7: *Endocrinology*, Vol. V: *Male Reproductive System*, p. 405-420, 1975)

Sperm Maturation: Structure & Function of Epididymis

精子的成熟: 附睾的结构与功能

Maturation, Transport & Fate of Spermatozoa in the Epididymis

精子在附睾中的成熟、转运和归宿

(*Handbook of Physiology*, Sec. 7: *Endocrinology*, Vol. V: *Male Reproductive System*, p. 303-318, 1975)

Metabolic Changes in Spermatozoa during Epididymal Transit

精子在附睾转运中的代谢变化

(*Handbook of Physiology*, Sec. 7: *Endocrinology*, Vol. V: *Male Reproductive System*, p. 437-452, 1975)

Comparative Physiology of the Mammalian Epididymis

哺乳动物附睾的比较生理学

(*General & Comparative Endocrinology*, Vol. 28, N. 4, p. 530-537, 1976)

Fine Structure of the Monkey Epididymis

猴附睾的微细结构

(*American Journal of Anatomy*, Vol. 149, N. 4, p. 501-532, 1977)

Semen & Fertilization

精液与受精

Biochemistry of Semen

精液的生物化学

(*Handbook of Physiology, Sec. 7: Endocrinology, Vol. V: Male Reproductive System*, p. 461-472, 1975)

Capacitation of Mammalian Sperm: Biological & Experimental Aspects

哺乳动物的精子获能: 生物学与实验方面

(*Handbook of Physiology, Sec. 7: Endocrinology, Vol. V: Male Reproductive System*, p. 339-352, 1975)

Mechanism of Action of Oxidized Polyamines on the Metabolism of Human Spermatozoa.....

氧化型多胺对人精子代谢的作用机制

(*Journal of Reproduction & Fertility*, Vol. 51, N. 2 p. 399-404, 1977)

Carnitine Levels in Human Accessory Sex Organs

人附性器官中肉毒碱的含量

(*Archives of Andrology*, Vol. 1, N. 1, p. 53-60, 1978)

Hormone Regulation of Male Reproduction

男性生殖活动的激素调节

Leydig Cells.....

间质细胞

(*Handbook of Physiology, Sec. 7: Endocrinology, Vol. V: Male Reproductive System*, p. 57-94, 1975)

Hormone Regulation of Spermatogenesis

精子发生的激素调节

(*Vitamins & Hormones*, Vol. 34, p. 187-214, 1976)

The Effects of Testosterone, 5 α -Dihydrotestosterone, 3 α -Androstenediol & 3 β -Androstenediol on the Maturation of Rabbit Epididymal Spermatozoa in Organ Culture

睾酮、5 α -双氢睾酮、3 α -雄烯二醇及 3 β -雄烯二醇对家兔附睾精子在器官培养中成熟的影响

(*Cell & Tissue Research*, Vol. 167, N. 4, p. 515-526, 1976)

Hormonal Interactions in Regulation of Androgen Secretion

雄激素分泌调节中各激素间的相互作用

(*Biology of Reproduction*, Vol. 18, N. 1, p. 44-54, 1978)

Male Contraceptives

男用避孕药

Control of Fertility in the Male General Discussion

男性生育力控制的讨论

(*Journal of Reproduction & Fertility, Supplement* 24, 175-205, 1976)

- The Human Semen & Fertility Regulation in the Male International Conference in Andrology.....
 国际男科学会议中关于男性精液及生育力调节的综合报导
 (*Journal of Reproductive Medicine*, Vol. 16, N. 2, p. 91-96, 1976)
- Effects of Cyproterone Acetate on Reproductive Functions in Normal Human Male.....
 醋酸色普隆对正常男子生殖机能的影响
 (*Contraception*, Vol. 14, N. 4, p. 403-420, 1976)
- Effect of 5-thio-D-glucose on Protein Synthesis *in vitro* by Various Types of Cells from Rat Testes.....
 5-硫代-D-葡萄糖对离体大鼠睾丸各类细胞的蛋白质合成的影响
 (*Journal of Reproduction & Fertility*, Vol. 49, N. 2, p. 359-397, 1977)
- Mode of Action of α -Chlorohydrin As a Male Anti-Fertility Agent
 雄性抗生育剂 α -氯代甘油的作用方式
 (*Biochemical Journal*, Vol. 170, N. 1, p. 23-37, 1978)
- Study of Medroxyprogesterone Acetate & Testosterone Enanthate As a Male Contraceptive
 醋酸甲孕酮与庚酸睾丸酮作男用避孕药的研究
 (*Contraception*, Vol. 15, N. 6, p. 679-691, 1977)
- Antispermato-genic Effects of 5-Amino Indazole in Rats
 5-氨基吡唑对大鼠的抗精子发生作用
 (*Journal of Reproduction & Fertility*, Vol. 50, N. 2, p. 371-372, 1977)
- Effect of Pharmacological Agents on Ejaculation
 药剂对射精的影响
 (*Journal of Urology*, Vol. 114, N. 4, p. 569-573, 1975)
- Ultrasound As a New Method of Male Contraception
 超声波——一种新的男性节育方法
 (*Fertility & Sterility*, Vol. 28, N. 8, p. 823-831, 1977)
- Assesment of Spermicides by a Stripping Technique Against Human Spermatozoa
 用人精子剥脱技术作为筛选体外杀精剂的方法
 (*Journal of Reproduction & Fertility*, Vol. 51, N. 2, p. 383-391, 1977)

Some Experimental Methods

一些实验方法

- Separation of Mouse Spermatogenic Cells by Sedimentations Velocity
 运用沉降速度分步法分离小鼠各种生精细胞
 (*Developmental Biology*, Vol. 49, N. 1, p. 119-131, 1976)
- Perfusion of the Male Rat Reproductive Tract: A Model for the Study of Androgen Secretion & Action
 大鼠生殖道灌注法: 研究雄激素分泌与作用的一种模型
 (*Current Topics in Molecular Endocrinology II: Hormone Regulation of Spermatogenesis*, p. 135-144, 1975)

Characteristics of Semen Collected from the Cauda Epididymidis of Conscious Rams (Journal of Reproduction & Fertility, Vol. 49, N. 2, p. 245-251, 1977)

从清醒公羊收集到的附睾尾液的特征

(Journal of Reproduction & Fertility, Vol. 49, N. 2, p. 245-251, 1977)

A One-Act Differential Stain of the Acrosome with Active Dyes (Journal of Reproduction & Fertility, Vol. 48, N. 2, p. 245-246, 1976)

用活性染料作精子顶体一步分化染色法

(Journal of Reproduction & Fertility, Vol. 48, N. 2, p. 245-246, 1976)

Spermatogenesis: Structure & Function of Testis

Spermatogenesis: Structure

& Function of Testis

Functional Morphology of the Testis

MARTIN DYM and JUAN CARLOS CAVICCHIA

*Department of Anatomy and Laboratory of Human Reproduction and
Reproductive Biology,
Harvard Medical School,
Boston, Massachusetts 02115*

INTRODUCTION

During the past decade the attention of many investigators has been directed to the role of the Sertoli cell in the spermatogenic process. An impressive array of functions has been assigned to Sertoli cells (Fawcett, 1975; Dym, 1977a). These include: 1) secretion of fluid into the tubule lumen; 2) synthesis of proteins; 3) phagocytosis of degenerating germ cells and residual bodies; 4) a role in the sperm release phenomenon; 5) a role in the movement of germ cells from base to lumen; 6) metabolism of steroids; 7) the formation of the blood-testis barrier. Other data demonstrate that the Sertoli cell is the principal site of action for FSH in the testis. As a result of this abundant research activity on Sertoli cells, less attention has been devoted to germ cell differentiation. In this paper I will review recent observations on the fine structure of monkey germ cells and present some new data on the blood-testis barrier. In addition, a preliminary morphometric study of the seminiferous epithelium will be presented.

MATERIALS AND METHODS

Adult male monkeys (*Macaca mulatta* and *Macaca arctoides*) were utilized for the studies. The testes were fixed by vascular perfusion using previously described techniques (Cavicchia and Dym, 1978). The perfusion commenced with a brief (≈ 10 second) wash of 0.9% saline followed by 30 min of fixation with 5% glutaraldehyde buffered in 0.2M *s*-collidine. One mm cubes of tissue were prepared and immersed in the same fixative for an additional 60 min. The blocks were washed in the collidine buffer and then postfixed in a solution containing 2 parts of 2% osmium tetroxide and 1 part of 1% potassium ferrocyanide (Karnovsky, 1971). The tissue was dehydrated in a

graded series of ethanol, cleared in propylene oxide and embedded in Epon. One μ sections were cut with glass knives, mounted on slides, stained with 1% toluidine blue and examined with the light microscope. These sections were used to identify the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the monkey as described by Clermont (1969). Adjacent thin sections, showing silver to pale gold interference colors, were cut with a diamond knife, mounted on uncoated copper grids and stained with lead citrate and uranyl acetate (Reynolds, 1963). The preparations were examined and photographed on a Philips 200 or JEM 100 S electron microscope. The techniques utilizing intercellular tracer compounds such as lanthanum nitrate and horseradish peroxidase have been described previously (Dym and Fawcett, 1970; Dym, 1973).

RESULTS AND DISCUSSION

Spermatogonia

Using the Epon-embedded tissue and either the light or electron microscope, 3 main classes of spermatogonia may be identified in monkey testis: type A dark (Ad), type A pale (Ap) and type B (Figs. 1-3). The appearance of each of these cells is generally similar to the previously reported description of monkey spermatogonia utilizing 5 μ paraffin sections (Clermont, 1969); however, the precise identity of the cell types is more difficult to establish in the thinner Epon sections.

Type A spermatogonia are oblong in shape and have a broad attachment to the basal lamina of the seminiferous epithelium. Perhaps the most distinguishing feature of these cells is that large areas of cytoplasm may be found which contain only ribosomes, either free or clustered as polyribosomes. Few other organelles are present, although occasional profiles of smooth endoplasmic reticulum, a small Golgi apparatus and round mitochondria may be noted.

The nuclei of the type A spermatogonia appear round or oval in sections and contain

¹Supported in part by research grant number HD 06969 from the National Institute of Child Health and Human Development, NIH.

DYM AND CAVICCHIA

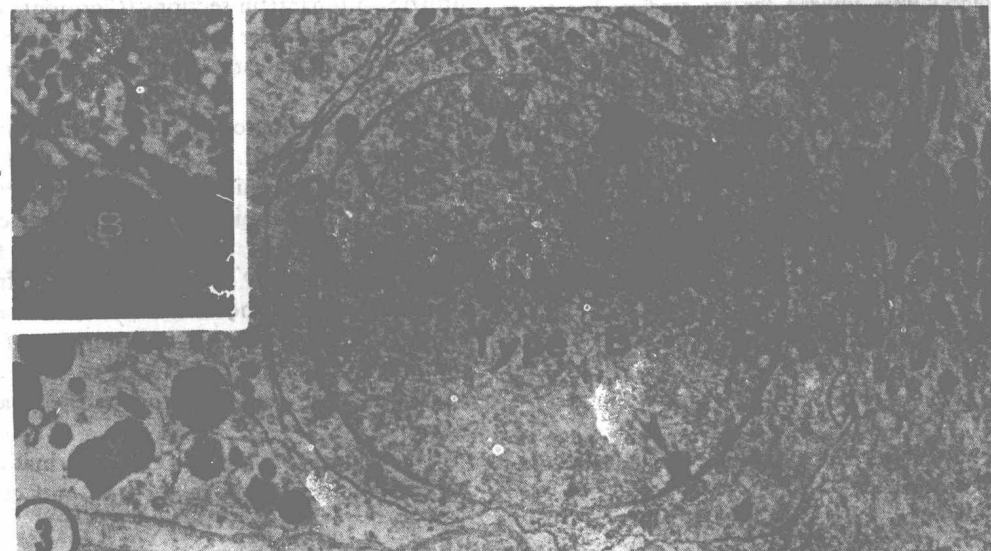
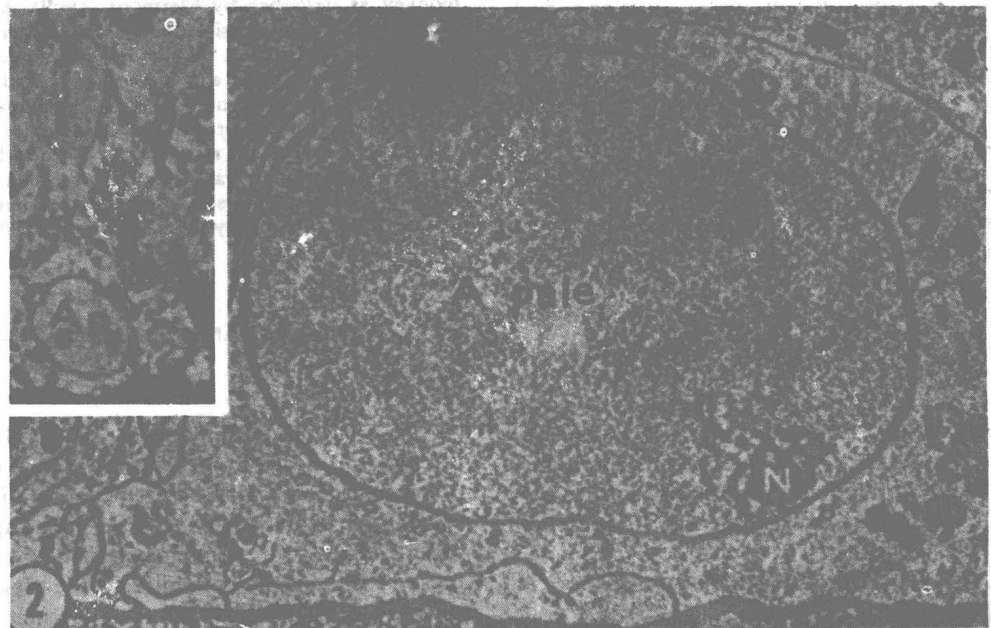
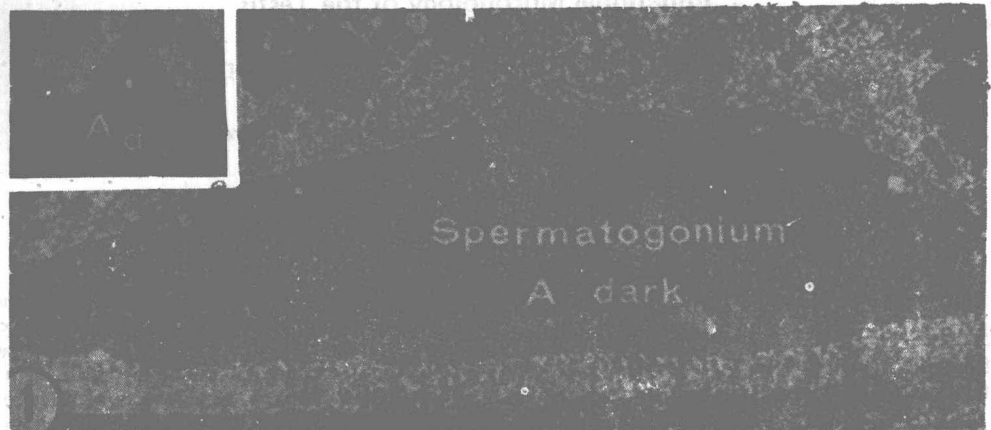


TABLE 1. Diameter of monkey spermatocytes in micra (mean $\pm$ S.E.).

Cell type	Cell	Nucleus
Preleptotene spermatocyte	10.14 $\pm$ 0.22	7.0 $\pm$ 0.16
Leptotene spermatocyte	12.75 $\pm$ 0.19	9.56 $\pm$ 0.11
Zygotene spermatocyte	13.0 $\pm$ 0.18	9.44 $\pm$ 0.13
Pachytene spermatocyte (stages I–II)	14.53 $\pm$ 0.18	10.37 $\pm$ 0.12
Pachytene spermatocyte (stages VI–VII)	15.65 $\pm$ 0.28	10.65 $\pm$ 0.15
Pachytene spermatocyte (stage XI)	16.94 $\pm$ 0.31	10.59 $\pm$ 0.16
Secondary spermatocyte	13.2 $\pm$ 0.55	7.2 $\pm$ 0.22

finely dispersed chromatin granules. One or 2 nucleoli usually attached to the nuclear envelope are present. Some type A nuclei stain very deeply, the A dark, whereas others are pale staining, the A pale. It is important to note that many intermediate staining patterns are also present, therefore, it is not always possible to classify each of the type A into A dark or A pale.

The 4 categories of type B spermatogonia (Clermont, 1969) are cells of very similar ultrastructure and will be described together. Type B cells are spherical and have less contact with the basal lamina compared to type A. The cytoplasm possesses a greater number of organelles than the type A, but no single organelle is particularly prominent. The centrally located nucleus is spherical in outline and usually contains a homogeneous nucleoplasm and several small clumps of chromatin close to the nuclear envelope. One or 2 nucleoli with associated chromatin are located in the central region of the nucleus.

Spermatocytes

Preleptotene spermatocytes (Fig. 4) have less contact with the basal lamina of the seminiferous epithelium than the type B spermatogonia. Sertoli cell processes have insinuated themselves between these early spermatocytes and the basal lamina; thus the preleptotene cells have commenced their ascent toward the tubule lumen. Many of them are completely detached from the tunica propria. The ultrastructural characteristics of preleptotene spermatocytes are different from the type B cells. The nucleoplasm is not as homogeneous as it is in the type B. Instead, it consists of irregular

patches of light and dark staining regions. Clumps of chromatin are associated with the nuclear envelope and the nucleolus. The nuclei are perfectly spherical, somewhat smaller than those of type B and are located in the central part of the cell. The cytoplasm of the preleptotene cells resembles that of type B spermatogonia.

As meiosis proceeds through leptotene and zygotene, the nuclei enlarge and display a progressive increase in the amount of chromatin clumping. During the zygotene phase unusual tripartite structures, the synaptonemal complexes, become visible in the nuclei. These structures are particularly prominent throughout the pachytene phase and serve as a characteristic identifying feature for the zygotene and pachytene cells. During the meiotic prophase the cytoplasm increases greatly in size as well (Table 1). A large Golgi apparatus, profiles of endoplasmic reticulum (see below) and mitochondria are prominent organelles. Spermatocyte differentiation during the long meiotic prophase is a very gradual process occupying approximately 16 days in monkeys. It is not possible to detect morphological differences between cells in contiguous steps of differentiation, e.g. late leptotene and early zygotene spermatocytes appear identical at the fine structural level; late zygotene and early pachytene are also very similar; pachytene spermatocytes in contiguous stages of the cycle cannot be readily distinguished from each other. Secondary spermatocytes are much smaller than late primary spermatocytes and, in addition to the size differences, they may be identified in sections by their spherical nuclei containing pale stained homogeneous nucleoplasm and

FIGS. 1–3. Electron micrographs of type A dark, A pale and B spermatogonia. Insets are light micrographs of the same cells. The arrowheads in Fig. 3 depict chromatin clumps at the periphery of the nucleus. N—nucleolus. $\times 3,900$. Insets $\times 950$.