

Epididimis: van hoofspeler tot bysaak?

M.H. Fourie* en M.S. Bornman

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Departement Urologie, Universiteit van Pretoria, Privaat sak X169, Pretoria, 0001

J.M.C. Oosthuizen

Departement Geneseskundige Fisiologie, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein, 9300

Ontvang 8 Augustus 1996; aanvaar 1 November 1996

UITTREKSEL

Tydens hulle gang deur die epididimis verwerf sperme die vermoë om voort te beweeg en te bevrug. Funksioneel en meganies is die epididimis onmisbaar vir in vivo-bevrugting, maar wat betref in vitro-bevrugting het die tegnologie met rasse skrede vooruitgegaan. Moderne sperm-injeksiertechnieke het die epididimis 'n "bysaak" gemaak by die behandeling van individuele infertiele paarjies.

Wanneer die fertilitetstatus van die globale bevolking ter sprake kom, speel die epididimis nog onteenseglik 'n "hoofrol". Dit sou belangrik wees om te bepaal of tanende testisfunksie, soos weerspieël in wêreldwyse datings in spermstellings, gepaardgaan met dalende epididimisfunksie, wat sal lei tot afnames in spermfunksie. Epididimisfunksie kan bepaal word deur die bepaling van epididimale merkers, waarvan α -glukosidase-aktiwiteit die effekiefste is. Ten opsigte van die klassifikasie van epididymale deurganklikheid het α -glukosidase 'n suksesyfer van 88% wanneer die afsnypunkt van 26,7 mU/ejakulaat gebruik word. Die EpiScreen (R) kitsmetode vir α -glukosidase-aktiwiteitsbepaling is geskik vir gebruik in die roetine diagnostiese laboratorium, maar vir navorsingsdoeleindes is die epididimisspesifieke metode verkiekslik. 'n Enkele bepaling van α -glukosidase vir diagnostiese doeleindes is voldoende, mits dit in samehang met die kliniese data geïnterpreteer word.

Ten opsigte van epididimale funksie toon α -glukosidase-aktiwiteit betekenisvolle positiewe korrelasies met spermmotiliteit en hegting aan die oösiel, maar is negatief gekorreleer met die teenwoordigheid van epididymopathologie. Hierdie korrelasies beklemtoon dat, hoewel moderne tegnologie wel die epididimis van die "verhoog" van in vitro-bevrugting mag stoot, die epididimis 'n onaanvegbare "hoofspeler" bly wanneer die gesondheid van die globale populasie ter sprake kom.

SLEUTELWOORDE: EPIDIDIMIS, EPIDIDIMALE MERKERS, MANLIKE INFERTILITEIT, SPERMMOTILITEIT, α -GLUKOSIDASE.

ABSTRACT

Epididymis: from lead player to side issue?

During epididymal transit, sperm acquire the capacity for fertilization and progressive motility. The epididymis is functionally and mechanically indispensable for in vivo fertilization, but technology has progressed rapidly in the field of in vitro fertilization. Modern sperm-injection techniques have dispensed with the epididymis as a necessity in the treatment of individual infertile couples.

However, when the fertility status of the entire population is considered, the leading role of the epididymis still cannot be ignored. It is potentially important to determine if decreased function of the testis, as reflected in world wide reports of decreasing sperm numbers, is accompanied by decreasing epididymal function, which would result in decreasing sperm function. Epididymal function can be determined by epididymal markers, of which α -glucosidase activity is most effective. The success rate of α -glucosidase for the classification of epididymal patency is 88%, using the cut-off point of 26,7 mU/ejaculate. The EpiScreen (R) kit is suitable for routine diagnostic laboratory use but the epididymal specific method for research purposes. One determination of α -glucosidase for diagnostic purposes is sufficient, providing that it is interpreted taking clinical data into account.

In relation to epididymal function, α -glucosidase activity showed significant positive correlation with sperm motility and binding of the oocyte, but correlated negatively with the presence of epididymal pathology. These correlations emphasize that, though modern technology might have minimised the importance of the epididymis for in vitro conception, when the global health of the population is considered, the epididymis will maintain its leading role.

INLEIDING

Histories is die funksionele rol van die epididimis in die ry wording van sperme en die bewaring van volwasse sperme as onaanvegbaar beskou vir die produksie van sperme met die nodige bevrugtingspotensiaal.¹⁻⁴ Die teenwoordigheid van deurganklike buise was ook 'n voorvereiste vir bevrugting by geassisteerde reproduksietegnieke. Hierdie status van die epididimis is die afgelope tyd uit talle oorde bevraagteken, in so 'n mate dat dit wil voorkom asof hierdie hoofspeler in die drama van menslike reproduksie die gevaa� loop om totaal van die verhoog

te verdwyn en 'n blote bysaak te word.

Ten eerste was daar sterk aanduidings dat die epididimis, as gevolg van die kledingspraktyke van die moderne mens, nie sy natuurlike rol as veilige bewaringsruimte kan vervul nie. Die dra van relatief stywe en digte bedekkings, soos moderne mansdrag, lei tot 'n substansiële verhoging in die oppervlaktemperatuur van die skrotum en gevolglik die omgewings temperatuur van die epididimis. Dit veroorsaak waarskynlik 'n direkte verlaging in die bewaringskapasiteit van die epididimis, met die gevolglike produksie van ejakulate van relatief minderwaardige kwaliteit.⁵

* Outeur aan wie korrespondensie gerig kan word.

Ten tweede het onlangse, suksesvolle ontwikkelinge op die gebied van geassisteerde reproduksietegnieke, soos epididimale⁶ en testikulêre⁷ spermaspirasies öenskynlik korte mette gemaak met die belang van die epididimis as meganiese buis en fisiologies-voedende en -beskermende ruimte waarbinne die onrype sperm maturiteit kan bereik. Hierdie twee tegnieke maak gebruik van onrype sperme wat direk uit die genoemde organe onttrek word, om die oösiel te bevrug en skakel dus deurgang deur die epididimis gedeeltelik of ten volle uit. Die doelwit van hierdie oorsig is die toelighting van die rol van die epididimis in manlike fertilitet en die relevansie daarvan vir hedendaagse reproduktiewe navorsing, met spesiale verwysing na die kliniese belang van α -glukosidase, wat tans die epididimale merker van keuse is.

ANATOMIE VAN DIE EPIDIDIMIS

Die epididimis is 'n hoogs gekrulde buis van ongeveer 6 meter wat die rete testis met die vas deferens verbind⁵ (figuur 1). Die gekrulde buis is op homself teruggevou en die hele struktuur is omsluit deur die bindweefsel van die tunica vaginalis, wat ook die testis omhul.⁸ Anatomies mag dit voorkom asof die epididimis bloot as verbindingsbuis funksioneer, maar dit is van kritieke belang vir die post-testikulêre ontwikkeling van die sperm se bevrugtingsvermoë.

Die epididimis word in drie segmente onderverdeel, wat aan die buitekant van die orgaan anatomies onderskei kan word en aan die binnekant van die buis op grond van histologiese eienskappe herkenbaar is.⁴ Proksimaal vanaf die testis is hierdie drie dele die caput, corpus en cauda epididimis (figuur 1).

Voorheen was die ductuli efferentes apart van die epididimis beskou, maar in die mees recente literatuur word dit wel as deel van die menslike caput epididimis beskryf.^{2,3} Spermkoncentrasies in die testis is laag, maar verhoog relatief oor die lengte van die epididimis as gevolg van vloeistofabsorbsie inveral die ductuli efferentes en die inisiële segment van die caput epididimis.²

EPIDIDIMIS EN RYPWORDING VAN SPERME

Die veranderende omgewing binne die epididimis. Veranderinge in die samestelling van die buisvog van die epididimis is in verskeie dieremodelle en spesifiek die rot² beskryf ten opsigte van die pH, ionkonsentrasies en verskeie organiese

komponente, waaronder die samestelling van proteïene. Veranderinge in die samestelling van die luminale vog van die epididimis is hoofsaaklik aan vier faktore te danke, naamlik die resorpsie van water, die sekresie en absorpsié van opgeloste stowwe (organies en anorganies) deur die epididimale epitheel en die metabolisme van sperme.⁹

Die sekresie van 'n opgeloste stof mag plaasvind deur direkte oordrag vanuit die bloedstroom, soos die geval is met L-karnitien, of via sintese deur die epididimale epitheel vanaf 'n voorloper uit die bloedtoevoer, soos die sintese van proteïene vanaf aminosure.⁹ Die sintese en sekresie van hierdie proteïene is gebiedspesifiek, sodat sperma tydens hulle deurtog deur die epididimis voortdurend aan 'n veranderende, unieke omgewing blootgestel word. Sommige van hierdie proteïene word aan die plasmamembraan van die sperma gebind en daarin geïnkorporeer.²

Genetiese studies het getoon dat die spesifiteit van protein-sintese en -sekresie teweeggebring word deur die spesifieke ekspressie van gene in spesifieke areas van die epididimis. Hierdie gebiedspesifieke ekspressie word teweeggebring deur differensiële geenregulering deur androgene en/of testikulêre faktore.¹⁰ Die rol van die veranderinge in die mikro-omgewing wat die rypwordende sperma omring, word nog nie in detail verstaan nie, maar dit word algemeen aanvaar dat afwykings in die samestelling van die epididimale vog 'n negatiewe effek op die rypwordingsproses van sperma kan hê, met ongewenste gevolge vir manlike fertilitet.²

Vir die daarstelling van die biochemies-gespesialiseerde omgewing waarin die sperm hom voortdurend bevind, is die sogenaamde bloed-epididimisskans van kardinale belang. Hierdie skans word gevorm deur die digte aansluitings tussen die epitelselle van die epididimis,¹¹ wat veroorsaak dat groot moleküle nie vryelik tussen die bloedstroom en die epididimale lumen kan diffundeer nie. Hierdie skans stel die epididimis in staat om die in- en uitbeweg van verskeie substansie te beheer, terwyl dit ook die sperma beskerm teen potensieel skadelike invloede, soos toksiese metaboliete en omgewingsfaktore en ook teen die liggaam se immuunsisteem.¹²

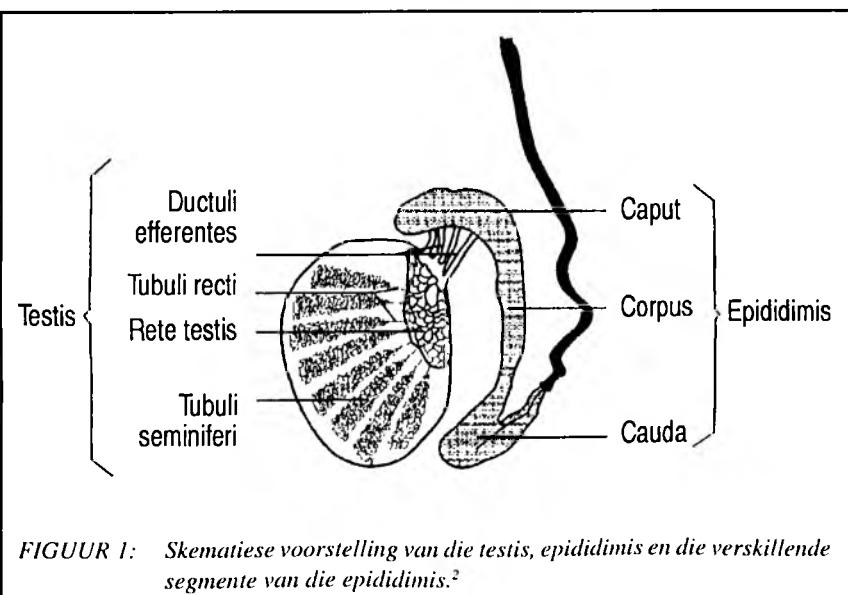
Vir al die bogenoemde funksies en vir die hooffunksie van spermrypwording is die epididimis afhanklik van voldoende testosteroonvoorsiening vanaf die testis.¹³

Spermrypwording: motiliteit en bevrugtingspotensiaal. Die doel van spermrypwording in die epididimis is tweeledig,

naamlik die ontwikkeling van die vermoëns tot voorwaartse beweging en tot bevrugting van 'n oösiel.^{14,15} Grootskaalse biochemiese veranderinge van die sperm tydens epididimale deurgang en die gepaardgaande rypwordingsproses is reeds beskryf, waaronder veranderinge aan die spermembraan en ook sekere metaboliese veranderinge,^{2,4} wat van kardinale belang is om die doel van spermrypwording te bereik.

Ontwikkeling van spermmotiliteit.

Sperme vrygestel uit die caput epididimis is immotiel of hul sterre toon slegs breë, stadige sweepslae, in teenstelling met die smal, vinnige sweepslae van volwasse sperma, wat eers waargeneem word by sommige van die sperma wat uit die middelste gebied van die corpus vrygestel word.⁵ Hierdie tipe motiliteit oorheers in die populasie wat uit die cauda vrygestel word, dog hier



kan steeds 'n onverwagte hoë fraksie onbeweeglike sperme voorkom.¹⁵

Die ontwikkelende vermoë vir funksionele motiliteit is met groot akkuraatheid in opeenvolgende segmente van die menslike epididimis aangetoon deur van rekenaar-geassisteerde spermanalise gebruik te maak. Hierdie studies toon dat die persentasie motiele sperme 'n piek bereik in die laer dele van die corpus, maar daarna weer afneem in die cauda. Die daling kan te wye wees aan die moontlike lang onthoudingsperiode by die groep van pasiënte met prostaatkarsinoom waarin hierdie studie uitgevoer is.¹⁵

Ontwikkeling van fertilisasiepotensiaal. Studies het getoon dat die vermoë van menslike sperme om zonavrye hamster-oösiete te penetreer en om aan menslike oösiete te bind, toeneem met die beweging van die sperme deur die corpus en cauda epididimis.^{4,14} Ander studies, veral dié van Schoysman¹⁶ en Silber,¹⁷ plaas 'n vraagteken oor die noodsaaklikheid van blootstelling van rypwordende sperme aan die distale streke van die epididimis. In hierdie studies is *in vitro*-bevrugting en swangerskappe verkry by pasiënte met obstruksies in die epididimis ná hegting van die deurganklike deel van die epididimis aan die ductuli efferentes.^{7,17} Die suksesyfers was egter wel hoër indien die sperme deur 'n langer deel van die epididimis beweeg het.^{7,17,18}

Hierdie oënskynlik teenstrydige resultate kan verklaar word deur die moontlikheid dat obstruksies van die geslagsbuise in die mens 'n verskuiwing van die normale patroon en plek van spermrypwording in die epididimis kan veroorsaak en dat selfs die vas deferens en vasa efferentia hierdie funksies van die epididimis minstens gedeeltelik kan oorneem.⁵ In hierdie verband is getoon dat onomkeerbare veranderinge in die epididimis ná die ontstaan van 'n obstruksie plaasvind, wat dit nog meer problematies maak om resultate van so 'n abnormale situasie na die normale fisiologiese toestand te ekstrapoleer.⁴

VERVOER EN BEWARING VAN SPERME IN DIE EPIDIDIMIS

Buite die rypwording van sperme is die ander belangrike funksies van die epididimis die vervoer van sperme vanaf die testis na die gebied waar sperme funksioneel bewaar word totdat ejakulasie plaasvind. Die tyd wat dit sperme neem om deur die totale lengte van die epididimis te beweeg, is afhanglik van die daagliks produksietempo van sperme, sodat 'n relatief vinnige deurgang van 2 tot 4 dae in baie gevalle algemeen is.^{4,5} Voorts is ook gevind dat kort tussenposes tussen ejakulasies die tempo van beweging deur die cauda epididimis kan verkort, maar geen invloed het op beweging deur die caput en corpus epididimides nie.⁴ Ná migrasie deur die caput en corpus is sperme in staat tot voorwaartse progressie en die fertilisasie van oösiete en word hulle in die cauda bewaar.⁴ In teenstelling met die meeste ander soogdiere is die cauda epididimis van die mens swak ontwikkel en blybaar nie geskik vir die langtermynpreservering van sperme nie.¹⁹ Een van die redes wat hiervoor voorgestel word, is dat 'n verhoging in die temperatuur van die skrotum (waarskynlik veroorsaak deur hedendaagse kleredrag) verskeie aspekte van epididimale funksie benadeel.⁵ Die funksies wat veral ter sprake is, is dié van die verskansing van spermkwaliteit in die cauda epididimis, wat die kwaliteit van die ejakulaat direk kan beïnvloed.

DIE EPIDIDIMIS EN FERTILITEIT

Die is duidelik dat deurganklikheid en normale funksie van die epididimis van kliniese belang in fertilitet is. Die insidensie van infertiliteit as gevolg van epididimes wat abnormaal of

hoegenaamd nie funksioneer nie is steeds onbekend, dog epididimale obstruksie is die algemeenste oorsaak van asoöspermie (afwesigheid van sperme in die ejakulaat).²⁰ Daar word beraam dat 'n manlike faktor by 50% van infertiele paartjies die oorsaak van primêre infertiliteit is, terwyl asoöspermie slegs by 3 tot 18,4% van hierdie pasiënte voorkom.^{8,21-23}

Asoöspermie word, algemeen gesproke, veroorsaak deur meganiese obstruksies in die geleidingsbuise vanaf die testis, of deur totale afwesigheid van spermatogenese. Drie biochemiese komponente van die seminale plasma, wat almal deur die epididimis gesekreteer word, is voorgestel as epididimale merkers vir die differensiële diagnose van asoöspermie. Hierdie drie is die α -glukosidase-ensiem, gliserofosfocholiën en L-karnitien (wat almal drastiese dalings in die ejakulaat ná vasektomie vertoon).^{13,18}

α -GLUKOSIDASE-AKTIWITEIT: EPIDIDIMALE MERKER VAN KEUSE

In studies waarin die drie vermelde merkers met mekaar vergelyk is, het α -glukosidase-aktiwiteit na vore gekom as die merker van keuse vir onderskeiding tussen deurganklike en obstruktiewe epididimale buise.^{13,24} Met gebruik van die epididimisspesifieke metode is gevind dat 88,4% van gevalle korrek geklassifiseer kon word (afsnypunt van 26,7 milli-eenhede (mE)/ejakulaat).^{25,26} Waardes minder as 26,7 mE/ejakulaat dui met $\pm 90\%$ sekerheid op die teenwoordigheid van 'n epididimale blokkasie.²⁶ Een eenheid alfa-glukosidase-aktiwiteit is gelykstaande aan die produksie van 1 μ mol van die produk van ensiemaktiwiteit per minuut by 37 °C.²⁵ Aktiwiteit word uitgedruk per ejakulaat en nie per milliliter (ml) nie, omdat inter- en intra-individuale variasies in die hydrae van aanvullende geslagsorgane tot die ejakulaat voorkom en die proporsionele hydrae wat die epididimis tot die ejakulaat lewer nie konstant is nie. Om die onbekende verdunningsfaktor uit te skakel, word die totale produksie van α -glukosidase-aktiwiteit dus gemeet.²⁵

'n Nuwe ontwikkeling op die gebied van α -glukosidase-aktiwiteitsbepaling, wat veral die aandag van roetine-laboratoriums sou trek, was die ontwikkeling van die EpiScreen (R) kitsmetode (FertiPro N.V., Sint-Martens-Latem, België). Hierdie metode bespaar aansienlike voorbereidingstyd en is vir die doel van roetine diagnostiese bepalings gerieflik en tyd- en kostedoeltreffend. Die kitsmetode se sensitiviteit is egter laag vir baie lae konsentrasies ($< 2\text{mU/mL}$). Hierdie konsentrasies lê egter ver onder die afsny-punt en het dus slegs vir navorsingsdoeleindes implikasies. Wanneer veranderinge in epididimale funksie bepaal word, sal die epididimisspesifieke metode van meer nut wees om die verwagte subtile veranderinge in α -glukosidase-aktiwiteit uit te wys.

Dit is by die interpretering van die merker uiterst belangrik om daarop te let dat lae α -glukosidase-aktiwiteit alleen betekenisvol is indien die hormoonprofiel van die pasiënt normaal is en volledige monsters spesiek ná drie dae onthouing van gemeenskap versamel is. Die kritieke belang van die hormoonprofiel is toe te skryf aan die androgeenafhanklikheid van epididimale funksie. Lae vlakke van testosteron sal epididimale funksie benadeel, met 'n gepaardgaande verlaging in die α -glukosidase-aktiwiteit in die seminale plasma.

α -glukosidase-aktiwiteit en spermmotiliteit. α -glukosidase kom nie in sperme voor nie en die rol daarvan in die epididimis is waarskynlik om glukose te voorsien wat as energiebron deur die sperme benut word, veral vir spermmotiliteit.^{27,28} In die rotmodel speel die ensiem 'n rol in die biochemiese instandhouding van sperme tydens hulle verpoing in die cauda epididimis, waartydens

die potensiaal tot voorwaartse progressie gepreserveer moet word tot ejakulasie plaasvind.³⁰ Teenstrydige resultate oor die verband tussen α -glukosidase en spermmotiliteit kom in die literatuur voor. Sommige studies kon geen verband aantoon nie terwyl 'n positiewe verband wel in ander gevind is.^{13,30-32} In 'n onlangse studie is hoë α -glukosidase-aktiwiteit posities gekorreleer met hoë persentasies sperme met goeie progressiewe sperm beweeglikheid.³³ Dit stem ooreen met die voorkoms van goeie progressiewe spermmotiliteit by fertiele mans.³⁴

Die afsnypunkt vir goeie spermmotiliteit (26,8 mE α -glukosidase-aktiwiteit/ejakulaat) was byna identies aan die afsnypunkt vir deurganklike epididimale huise (26,7 mE/ejakulaat).³³ Die klassifisering van goeie en swak sperm beweeglikheid ewenaar egter nie die ensiem se akkuraatheid as merker van epididimale deurganklikheid nie. Dit beklemtoon ten eerste dat α -glukosidase-aktiwiteit maar een van verskeie faktore is wat spermmotiliteit beïnvloed en ten tweede dat α -glukosidase-aktiwiteit 'n aanduiding van epididimale funksie per se is. Hierdie verband is ook aangedui in pasiënte met infeksie van die epididimis, wat presenteert het met lae waardes van α -glukosidase-aktiwiteit.^{30,35}

α -glukosidase-aktiwiteit en bevrugting. 'n Verband tussen α -glukosidase-aktiwiteit en bevrugting is onlangs geïmpliseer deur die positiewe korrelasie tussen α -glukosidase-aktiwiteit en sperm binding aan die zona pellucida van die oösiel, wat die eerste stap in die bevrugtingsproses verteenwoordig.³⁶ In 'n poging om 'n *in vivo*-afsnypunt vir "normale" α -glukosidase-aktiwiteit te bepaal, is die seminale aktiwiteit in 'n groep van bewese fertiele vaders bepaal. Die reikwydte van aktiwiteit wat in hierdie groep mans gemeet is, was baie wyd (5,1 tot 204 mE/ejakulaat) (met waardes beide onder en bo die afsnypunkt van 26,7 mE/ejakulaat).³³ Vyf persent van die bewysde vaders het α -glukosidase-aktiwiteit van 5,1 mE/ejakulaat gehad (die sogenaamde 5de persentiel). Die 5de persentiel geld dikwels as 'n afsnypunkt, maar was in hierdie geval onbruikbaar laag.³³

Bovermelde beklemtoon die risiko daarvan verbonde om op 'n enkele parameter staan te maak om die fertilitetstatus van 'n pasiënt te beoordeel. Soos dikwels in die praktyk waargeneem, toon dit ook dat 'n semenmonster met abnormale eienskappe (gemeet aan die standaarde van die Wêreldgesondheidsorganisasie), wel 'n oösiel kan bevrug.

GEVOLGTREKKING

Die oënskynlik verlaagde status van die epididimis in produktiewe funksie blyk die motivering vir die gedetailleerde studie van epididimale merkers te bevraagteken. Manlike infertiliteit is egter steeds 'n siektetoestand wat volgens alle aanduidings besig is om toe te neem.^{37,38} Die etos van geneeskunde verlang ook van artse meer as net die blote behandeling van simptome op sigwaarde. Vir die ware klinikus (nie 'n blote fasilitaat nie) wat daarin geïnteresseerd is om die simptome te verantwoord ten einde die oorsaak van 'n siektetoestand te bepaal, is die epididimis steeds 'n teikenorgaan vir diagnostiese ondersoek en epididimale merkers steeds die basiese toerusting om die deurganklikheid en funksie van die epididimis te bepaal.

Die koste verbonde aan die bepaling van epididimale merkers is minimaal in vergelyking met die uitgawes van indringende tegnieke soos skrotale eksplorasies. Die presiese rol van die ensiem in die epididimis en in die fertilitasipotensiaal van sperme behoort verder ondersoek te word, omrede regulering daarvan belangrike implikasies vir kontrasepsie mag inhou.

Dit is nie buite orde om te spekuleer dat die veelbesproke daling in sperm tellings maar net 'n voorloper is van ander

dalende kriteria wat eers mettertyd na vore sal kom nie.^{37,38} In hierdie verband is die bepaling van differensiële spermmotiliteit maar sedert 1987 in die handleiding van die WGO opgeneem³⁹ en ander spermfunksietoets, soos die akrosoomreaksie⁴⁰, zona-bindings-essai⁴¹ en die hamsteroösiel-penetrasiptoets⁴² maar relatief nuwe toevoegings tot diearsenal van diagnostiese hulpmiddels. Dit sal eers oor 'n paar jaar duidelik word of die daling in sperm tellings gepaardgaan met dalings in spermkwaliteit, maar dit is seker dat die etiologie van sodanige afnames nie sonder die hulp van betroubare merkers van die aanvullende geslagsorgane bepaal sal kan word nie. Indien dalings in spermkwaliteit die dalings in sperm tellings sou vergesel, is dit seker dat die moontlikheid van aantasting van die epididimis nie langer geïgnoreer sal kan word nie.

Soos verduidelik, is die daarstel van 'n spesifieke biochemiese milie (wat verskil oor die lengte van die epididimis) noodsaaklik vir sperm maturasie in nie-patologiese deurganklike epididimes. Deurganklike epididimes is lank nie meer 'n vereiste vir suksesvolle *in vitro*-bevrugting nie en in hierdie geval kan epididimale deurganklikheid dus as 'n bysaak beskou word, mits hoëtegnologie noodsaaklik vir direkte sperminspuitingstegnieke beskikbaar is. Wanneer die reproduktiewe gesondheid van 'n bevolking egter as geheel beskou word, kan die epididimis nooit van die toneel verdwyn nie. Dit is juis noodsaaklik dat die hoofrol daarvan in *in vivo*-bevrugting verder ondersoek en beskerm sal word teen potensieel gevaaalike omgewingsbesoevlingsfaktore.

SUMMARY

Introduction

Historically, the epididymis was seen as indispensable for the maturation and storage of sperm, while the absence of patent epididymes precluded successful assisted reproduction. Lately, this status of the epididymis has been challenged by several issues, seeming to reduce the role of this organ to a merely incidental one. The first issue is the modern-day practice of men to wear relatively tight clothing, which substantially increases the ambient temperature of the scrotum and thus the epididymis, apparently causing a direct decrease in the storage capacity of the epididymis and in the subsequent quality of ejaculates. The second issue is the giant strides recently taken in reproductive technology, e.g. live births resulting from epididymal and testicular sperm aspirations and subsequent micro-assisted sperm injection of human oocytes. This review will focus on the role of the epididymis in male fertility and its importance in modern day reproductive research, with special reference to α -glucosidase, the epididymal marker of choice.

Anatomy of the epididymis

The epididymis is a highly convoluted tube of approximately 6 metres in length, connecting the testis with the vas deferens. It is of great importance in the post-testicular development of sperm fertilization potential. Sperm concentrations are low in the testis and increase over the length of the epididymis, as a result of fluid absorption.

The epididymis and maturation of sperm

When epididymal function is studied, all results must be interpreted taking into account that epididymal function is dependent on sufficient testosterone supplies. Several factors influence

the biochemical composition of the intraluminal fluid along the length of the epididymis, including the resorption of water, the secretion and absorption of diluents (both organic and inorganic) by the epididymal epithelium, and the metabolism of specific substances by sperm.

The secretion of diluents by the epididymal epithelium may be directly from the blood stream, as is the case with L-carnitine, or via epithelial synthesis from precursors from the blood, as in the synthesis of proteins from amino acids. The synthesis and secretion of proteins are regionally specific, resulting in the exposure of sperm to an ever-changing, unique environment during progress through the epididymis. Some of these proteins are bound to or incorporated into the sperm membrane. It is generally accepted that changes in the composition of intraluminal epididymal fluid should affect the maturation of sperm negatively, with resultant effects on male fertility.

The existence of the blood-epididymal barrier is essential to maintain the biochemically specialized intraluminal environment. This barrier is composed of tight junctions between the epididymal epithelial cells, preventing free diffusion of larger molecules between the epididymal lumen and the blood circulation. It is the main mechanism for regulating the entrance and exit of substances to and from the lumen, while it protects sperm from toxic metabolites, environmental factors and the body's immune system.

Sperm maturation: motility and fertility potential. Sperm maturation involves the development of the capacity for forward progression and for fertilization. In this regard, changes in the metabolism and the sperm membrane are very important. Sperm released from the caput epididymis are immotile or display only broad, slow sweeping movements, in contrast with the rapid movements of mature sperm. The ability of human sperm to bind and penetrate oocytes has been shown to increase during epididymal transit.

Live births resulting from *in vitro* fertilization with sperm aspirated from obstructed epididymes and even the testis, question the crucial importance of the exposure of sperm to the epididymal environment. These apparent discrepancies were suggested to be caused by "skewing" of the normal pattern and place of sperm maturation in the obstructed epididymis and by the limited assumption of epididymal functions by the vas deferens and the vasa efferentia in cases of obstructed epididymes. Post obstruction changes in the epididymis may also be irreversible, further complicating conclusions from the results of studies of the re-establishment of ductal patency.

The transport and storage of sperm in the epididymis

The time needed for sperm transport depends on the daily production rate of sperm; a period of only 2 to 4 days may occur in humans. The apparent inability of the human cauda epididymis to preserve sperm function over long periods is partly explained by the elevated environmental temperature of the epididymis, induced by wearing relatively tight clothing and exacerbated by the modern-day sedentary lifestyle, which has a negative influence on epididymal function, particularly those functions pertaining to the preservation of sperm quality.

The epididymis and fertility

Azoospermia is found in 3 to 18,4% of all infertile males. The incidence of infertility due to abnormal epididymal function is not known, but epididymal obstruction is the most common cause of obstructive azoospermia (no sperm in the ejaculate due to an obstruction of the epididymis), as opposed to secretory

azoospermia (no sperm in the ejaculate due to spermatogenic arrest). Three biochemical components of the seminal plasma, all originating from the epididymis, have been proposed for differentiating between spermatogenic arrest and epididymal obstruction. These include the α -glucosidase enzyme, glycerophosphocholine and L-carnitine. The levels of all three are drastically reduced after vasectomy.

α -Glucosidase-activity: epididymal marker of choice

α -Glucosidase activity was the marker of choice, classifying 88,4% of cases correctly as either obstructive or non-obstructive, using the lower limit of 26,7 mU/ejaculate. The advent of the EpiScreen (R) α -glucosidase kit on the market (FertiPro N.V., Sint-Martens-Latem, Belgium) has made the use of this marker even more attractive, especially for routine diagnostic use. For research purposes, when subtle changes in epididymal function might be expected, the epididymal specific method is still the method of choice.

For correct interpretation of this epididymal marker, the hormonal profile of the patient or subject in question must be normal, since the epididymis is functionally dependent on adequate supplies of testosterone. When an azoospermic patient is investigated, it must also be accepted that a single parameter, determined in a single sample, can never fully explain the fertility status of such a patient.

α -Glucosidase activity and sperm motility. α -Glucosidase is not found in sperm and its role in the epididymis is to assist in the provision of energy for the development of sperm motility. Though certain studies have failed to prove a relationship between α -glucosidase activity and sperm motility, others have indicated statistically significant, though weak, positive correlations between α -glucosidase activity and differential sperm motility. This emphasises that sperm motility is influenced by multiple factors and that α -glucosidase activity is at least partly a reflection of epididymal function per se.

α -Glucosidase activity and fertilization. A relationship between α -glucosidase activity and fertilization has been implicated by the positive correlation between α -glucosidase activity and the percentage of sperm bound to the zona pellucida of the oocyte, which is the first step in the fertilization process. An attempt was made to determine an *in vivo* cut-off point for predicting patency of the epididymis, by determining the seminal α -glucosidase activity of a group of proven fertile fathers. The range of activity measured was found to be very wide and the fathers presented with values indicative of both patent and obstructed epididymes, according to the previously determined cut-off point of 26,7 mU/ejaculate. This emphasizes that a semen sample with abnormal characteristics according to the definitions of the World Health Organization, can often cause fertilization.

Conclusion

The apparent erosion of the status of the epididymis in reproductive function seems to undermine the motivation for detailed studies of epididymal markers. Male infertility is, however, a disease which is apparently increasing and not only a hurdle to be overcome when striving to meet the needs of infertile couples. The ethos of medicine also requires more from medical practitioners than merely the treatment of symptoms on their face value. For the true clinician, interested in determining the aetiology of a disease, the epididymis will remain a target organ and epididymal markers will endure as basic, cost-effective tools for determining the patency and function of the epididymis.

The precise role of the α -glucosidase enzyme in the epididymis needs to be further investigated, as regulation thereof might have important implications for contraceptive use. Furthermore, it is not far fetched to speculate that the much publicized decrease in sperm count might be accompanied by decreases in sperm function, the aetiology of which can only be determined by the use of reliable markers of the accessory reproductive organs. In this regard, it is certain that the epididymis cannot be ignored.

Since patent epididymes are no longer essential for successful *in vitro* fertilisation, the epididymis might here be considered as a mere side-issue, providing that the sophisticated technology for direct sperm injection is available. When the reproductive health of the population as a whole is considered, however, the epididymis can never be relegated to a mere side-issue. On the contrary, the leading role of the epididymis should be further investigated and, for the sake of the reproductive future of the nation, the epididymis should be protected from potentially harmful environmental toxins.

LITERATUURVERWYSINGS

1. Cooper, T.G. (1986). *The epididymis, sperm maturation and fertilisation* (Springer Verlag, Heidelberg).
2. Yamamoto, M. & Turner, T.T. (1991). Epididymis, sperm maturation and capacitation. In *Infertility in the male*, 2nd ed., Lipshultz, L.I., Howards, S.S. eds. (Mosby-Year Book, St. Louis) pp. 103-111.
3. Turner, T.T. (1979). On the epididymis and its function, *Inv. Urol.*, 16, 311-321.
4. Schlegel, P.N. & Chang, T.S.K. (1992). Physiology of male reproduction: the testis, epididymis, and ductus deferens. In *Campbell's Urology*, 6th ed., vol. 1., Walsh, P.C., Retik, A.B., Stamey, T.A. & Vaughan, E.D. eds. (W.B. Saunders, Philadelphia) pp. 190-220.
5. Bedford, J.M. (1994). The status and the state of the human epididymis, *Hum. Reprod. Update*, 9, 2187-2199.
6. Temple-Smith, P.D., Southwick, G.J., Yates, C.A., Trounson, A.D. & de Kretser, D.M. (1985). Human pregnancy by *in vitro* fertilization (IVF) using sperm aspirated from the epididymis, *J. In Vitro Fert. Embryo Transf.*, 2, 119-22.
7. Schoysman, R., Van der Zwalm, P., Nijs, M., Segal, L., Segal-Bertin, C., Geerts, L., Van Rosendaal, E. & Schoysman, D. (1993). Pregnancy after fertilization with human testicular sperm (letter), *Lancet*, 342, 1237.
8. Von Lanz, T. & Neuhäuser, G. (1964). Morphometrische analyse des menschlichen Nebenhodens, *Z. Anat. Entwicklungsgesch.*, 124, 126.
9. Flickinger, C.J., Howards, S.S. & English, H.F. (1978). Ultrastructural differences in efferent ducts and several regions of the epididymis of the hamster, *Am. J. Anat.*, 152, 557-586.
10. Cornwall, G.A. & Hann, S.R. (1995). Specialized gene expression in the epididymis, *J. Androl.*, 16, 379-383.
11. Suzuki, F. & Nagano, T. (1978). Development of tight junctions in caput epididymal epithelium of mouse, *Dev. Biol.*, 63, 321.
12. Holstein, A.F. (1969). Morphologische studien am Nebenhoden des Menschen, *Zwanglose Abhaufl. Gebeit. Norm. Pathol. Anat.*, 20, 1.
13. Cooper, T.G., Yeung, C.-H., Nashan, D. & Nieschlag, E. (1988). Epididymal markers in human infertility, *J. Androl.*, 9, 91-101.
14. Moore, H.D.M. (1990). Development of sperm-egg recognition processes in mammals, *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 42, 71-78.
15. Yeung, C.-H., Cooper, T.G., Oberpenning, F., Schulze, H. & Nieschlag E. (1993). Changes in movement characteristics of human spermatozoa along the length of the epididymis, *Biol. Reprod.*, 49, 274-280.
16. Schoysman, R., Vanderzwalm, P., Nijs, M., Segal, L., Segal-Bertin, G., Geerts, L., Van Rosendaal, E. & Schoysman-Deboeck, A. (1994). Pregnancy obtained with human testicular spermatozoa in an *in vitro* fertilization program, *J. Androl.*, 15 Suppl, 10S-13S.
17. Silber, S.J. (1989). Role of epididymis in sperm maturation, *J. Urol.*, 33, 47-51.
18. Casano, R., Orlando, C., Caldini, A.L., Barni, T., Natali, A. & Serio, M. (1987). Simultaneous measurement of seminal L-carnitine, alpha-1,4-glucosidase, and glycercylphosphorylcholine in azoospermic and oligozoospermic patients, *Fertil. Steril.*, 47, 324-328.
19. Yanagimachi, R. (1994). Fertilization mechanisms in man and other mammals. In *Male factor in human infertility*, Tesarik, J. ed. (Ares-Serono Symposia, Rome) pp. 15-43.
20. Swerdloff, R.S. & De Kretser, D.M. (1983). Endocrine evaluation of the infertile male. In *Infertility in the male*, Lipshultz, L.I. & Howards, S.S. eds. (Churchill Livingstone, New York) pp. 211-212.
21. Herlihy, R., Lee, R.D. & Lipshultz, L.I. (1987). Evaluation of the infertile male. In *Andrology*, Pryor, J.P. & Lipshultz, L.I. eds. (Butterworths, London) pp. 242-260.
22. Baker, H.W.G., Burger, H.G., De Kretser, D.M. & Hudson, B. (1986). Relative incidence of etiological disorders in male infertility. In *Male reproductive dysfunction*, Santen, R.J. & Swerdloff, R.S. eds. (Marcel Dekker Inc., New York) pp. 341-372.
23. Van Zyl, J.A., Menkveld, R., Retief, A.E. & Van Niekerk, W.A. (1976). Oligozoospermia. In *Human semen and fertility regulation in men*, Hafez, E.S.E. ed. (The CV Mosby Company, Saint Louis) pp. 363-369.
24. Lipshultz, L.I. & Howards, S.S. (1983). Evaluation of the subfertile man. In *Infertility in the male*, Lipshultz, L.I. & Howards, S.S. eds. (Churchill Livingstone, New York) pp. 195-201.
25. Fourie, M.H., Bornman, M.S., Wolmarans, L., Reinach, S.G. & Du Plessis, D.J. (1992). Alfa-glukosidase as epididymal marker in obstruktiewe asoëspermie, *Geneeskunde*, 34, 8-13.
26. Cooper, T.G., Yeung, C.-H., Nashan, D., Jockenhövel, F. & Nieschlag, E. (1990). Improvement in the assessment of human epididymal function by the use of inhibitors in the assay of α -glucosidase in seminal plasma, *Int. J. Androl.*, 13, 297-305.
27. Fourie, M.H. & Bornman, M.S. (1994). Epididymal markers in azoospermia, *Afr. J. Urol.*, 1, 43-48.
28. Amelar, R.D., Dubin, L. & Schoenfeld, C.Y. (1980). Sperm Motility, *Fertil. Steril.*, 34, 197-215.
29. Chapdelaine, P., Tremblay, R.R., Dubé, J.Y., St-Yves, C. & Mailhot, J. (1978). Origin of maltase and variations in infertile men, *Arch. Androl.*, 1, 61-68.
30. Yeung, C.H. & Cooper, T.G. (1994). Study on the role of epididymal α -glucosidase in the fertility of male rats by the administration of the enzyme inhibitor castanospermine, *J. Reprod. Fert.*, 102, 401-410.
31. Purvis, K., Brekke, I. & Tollesrud, A. (1991). Epididymal secretory function in men with asthenozoospermia, *Human Reprod.*, 6, 850-853.
32. Guerin, J.-F., Ali, H.B., Cottinet, D. & Rollet, J. (1990). Seminal α -glucosidase activity as a marker of epididymal pathology in nonazoospermic men consulting for infertility, *J. Androl.*, 11, 240-245.
33. Tremblay, R.R., Chapdelaine, P. & Mailhot, J. (1979). α -1,4-Glucosidase activity in human semen: variations with number and motility of spermatozoa, *Fertil. Steril.*, 31, 592-593.
34. Fourie, M.H. (1995). *Epididymal markers with specific reference to α -glucosidase in infertile males*. M.Sc. Thesis, University of Pretoria, Pretoria.
35. Comhaire, F. & Vermeulen, L. (1995). Human semen analysis, *Hum. Reprod. Update*, 1, 343-362.
36. Cooper, T.G., Weidner, W. & Nieschlag, E. (1990). The influence of inflammation of the human male genital tract on secretion of the seminal markers α -glucosidase, glycerophosphocholine, carnitine, fructose and citric acid, *Int. J. Androl.*, 13, 329-336.
37. Ben Ali, H., Guerin, J.F., Pinatel, M.C., Mathieu, C., Boulieu, D. & Tritar B. (1994). Relationship between semen characteristics, α -glucosidase and the capacity of spermatozoa to bind to the human zona pellucida, *Int. J. Androl.*, 17, 121-126.
38. Van Waeleghem, K., De Clerq, N., Vermeulen, L., Schoonjans, F. & Comhaire, F. (1994). Deterioration of sperm quality in young Belgian men during recent decades, *Hum. Reprod.*, 9, Supplement 4, 73.
39. Irvine, S., Cawood, E., Richardson, D., MacDonald E., Aitken, J. (1996). Evidence of deteriorating semen quality in the United King-

- dom: birth cohort study in 577 men in Scotland over 11 years, *BMJ.*, 312, 467-471.
40. World Health Organization. (1987). *WHO Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction*, 2nd ed. (The Press Syndicate of the University of Cambridge, Cambridge, Cambridge).
41. Cross, N.L., Morales, P., Overstreet, J.W. & Hanson, F.W. (1986). Two simple methods for detecting acrosome-reacted human sperm. *Gamete Res.*, 15, 213-226.
42. Burkman, L.J., Coddington, C.C., Franken, D.R., Kruger, T.F., Rosenwaks, Z. & Hodgen, G.D. (1988). The hemizona assay (HZA): Development of a diagnostic test for the binding of human spermatozoa to the human zona pellucida to predict fertilization potential, *Fertil. Steril.*, 49, 688-697.
43. Aitken, R.J., Templeton, A., Schats, R., Best, F., Richardson, D., Djahanbakch, O. & Lees, M. (1983). Methods of assessing the functional capacity of human spermatozoa: their role in the selection of patients for in vitro fertilization. In *Fertilization of the Human Egg in vitro*, Beier, H. & Lindner, H. eds. (Springer-Verlag, Berlin) pp. 147-165.