



Universitat de Girona

ANÀLISI MICROSCÒPICA DE L'ESPERMA EJACULADA I DE LA MADURACIÓ EPIDIDIMÀRIA DELS ESPERMATOZOIDES DE *Sus domesticus*

Maria Dolors BRIZ GONZÁLEZ

ISBN: 978-84-691-6309-2

Dipòsit legal: GI-I203-2008

<http://hdl.handle.net/10803/7632>

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

**ANÀLISI MICROSCÒPICA DE L'ESPERMA EJACULADA
I DE LA MADURACIÓ EPIDIDIMÀRIA DELS
ESPERMATOZOIDES DE *Sus domesticus***

Maria Dolors Briz González

103.386



Universitat de Girona
Biblioteca

Departament de Biologia
UNIVERSITAT DE GIRONA

1994

Departament de Biologia
UNIVERSITAT DE GIRONA

**ANÀLISI MICROSCÒPICA DE L'ESPERMA EJACULADA I DE
LA MADURACIÓ EPIDIDIMÀRIA DELS ESPERMATOZOIDES
DE *Sus domesticus***

Memòria que presenta Maria Dolors Briz González
per optar al grau de Doctor en Ciències Biològiques
per la Universitat de Girona



Vist-i-plau del director de la
memòria, Dr. Sergi Bonet Marull,
professor titular del Departament de
Biologia de la Universitat de Girona,



Dr. Sergi Bonet Marull

Girona, 1994

AGRAÏMENTS

Desitjo expressar el meu agraïment a totes les persones, centres o institucions que, d'una forma o d'altra, m'han ajudat a fer possible la realització d'aquest treball.

Molt especialment, el més sincer agraïment al Dr. Sergi Bonet per la direcció de la tesi, així com pel seu suport, confiança i afabilitat en tot moment.

A les meves companyes del Grup de Biologia de la Reproducció de la UdG, Anna Fradera i Beth Pinart, per la seva inestimable i desinteressada col.laboració, així com per la seva amistat i ànim.

A tot el Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat Autònoma de Barcelona, sobretot a l'Onofre Castell i a en Francesc Bohils.

A l'Emili García i al Dr. Ramon Moreno del Departament de Ciències Ambientals de la UdG, per l'assessorament rebut pel que fa als programes informàtics de tractament estadístic de les dades d'aquesta memòria.

A tots els companys del Departament de Ciències Ambientals i del Departament de Biologia de la UdG, especialment a la Dra. Marisa Molinas i a la Gemma Huguet de l'àrea de coneixement de Biologia Cel.lular.

Al Rectorat de la UdG, al Deganat de la Facultat de Ciències Experimentals i de la Salut i a la Direcció del Departament de Biologia, per l'oportunitat que m'han donat de dur a terme aquest treball i pel seu suport econòmic.

A la CIRIT, a la DGU i al Comissionat per a Universitats i Recerca de la Generalitat de Catalunya pel seu ajut econòmic.

Als meus amics Toni Benito, per la seva paciència en fer de "correu personal" entre el Servei de Microscòpia de la UAB i la UdG, i Kim Paredes, per la seva imaginació i qualitat d'artista "per encàrrec".

A la Dra. Lluïsa Gràcia, per la seva acurada revisió del manuscrit i per l'assessorament en la redacció de la memòria.

A tota la meva família, sobretot a en Joan i als meus pares. Molt especialment, a la Carina Briz, per ajudar-me en la realització d'alguns dels dibuixos i esquemes presentats, i a en Joan Hortal, pel temps dedicat a ajudar-me a perfeccionar alguns gràfics d'aquesta memòria. A tots ells he d'agrair la seva paciència, així com l'ajut moral i l'ajut "material" que m'han donat en tot moment.

He intentat citar a tots els que m'han ajudat, però sé que potser m'he deixat algú. Perdoneu si no figureu a la llista i accepteu el meu agraïment.

ÍNDEX

	pàgina
• INTRODUCCIÓ	1
1. OBJECTIUS DEL TREBALL I ORGANITZACIÓ DE LA MEMÒRIA.....	3
1.1. Antecedents i objectius del treball.....	3
1.2. Organització de la memòria.....	4
2. OBTENCIÓ I CARACTERÍSTIQUES GENERALS DE L'ESPERMA EJACULADA.....	6
2.1. Obtenció.....	6
2.2. Característiques generals.....	8
3. OBTENCIÓ I CARACTERÍSTIQUES GENERALS DE L'ESPERMA EPIDIDIMÀRIA...	9
3.1. Obtenció.....	9
3.2. Característiques generals.....	10
4. ANÀLISI DE LA QUALITAT ESPERMÀTICA.....	12
4.1. El pH de l'esperma.....	12
4.2. La motilitat espermàtica.....	13
4.3. La concentració espermàtica.....	19
4.4. La vitalitat espermàtica.....	22
4.5. L'estabilitat de les membranes espermàtiques.....	23
4.6. L'aglutinació espermàtica.....	24
4.7. La morfologia espermàtica.....	25
4.7.1. Ús de la microscòpia òptica.....	26
4.7.2. Ús de la microscòpia electrònica d'escànnig.....	31
4.7.3. Ús de la microscòpia electrònica de transmissió.....	31
5. CARACTERÍSTIQUES GENERALS DE L'EPIDÍDIM.....	33
5.1. Estructura de l'epidídim.....	33
5.2. L'epiteli i el fluid luminal del conducte epididimari.....	35
5.3. El transport espermàtic a través de l'epidídim.....	36
• Capítol 1: MORFOLOGIA ESPERMÀTICA DE L'EJACULAT	39
MATERIAL I MÈTODES	41
1. MATERIAL.....	41
1.1. Característiques dels exemplars.....	41
1.2. Obtenció i conservació de les mostres.....	41

	pàgina
2. MÈTODES.....	42
2.1. Processat de les mostres per a microscòpia òptica.....	42
2.2. Fixació de les mostres per a microscòpia electrònica.....	43
2.2.1. Processat de les mostres fixades per a microscòpia electrònica d'escànnig.....	43
2.2.2. Processat de les mostres fixades per a microscòpia electrònica de transmissió.....	44
RESULTATS.....	47
1. L'ESPERMATOZOIDE MADUR.	
1.1. Estructura i morfologia externa.....	47
1.2. Ultraestructura.....	47
1.2.1. El cap.....	47
1.2.2. La peça de connexió.....	49
1.2.3. La peça intermèdia.....	51
1.2.4. La peça principal.....	52
1.2.5. La peça terminal.....	53
2. L'ESPERMATOZOIDE IMMADUR.....	58
3. ELS ESPERMATOZOIDES ABERRANTS.....	59
3.1. Morfologia externa i classificació.....	59
3.1.1. Malformacions que afecten la mida o la forma del cap.....	59
3.1.2. Malformacions que afecten la longitud de la cua.....	60
3.1.3. Malformacions que afecten la trajectòria de la cua.....	61
3.1.4. Malformacions que afecten el nombre de cues.....	62
3.1.5. Malformacions que afecten el nombre de caps.....	63
3.1.6. Malformacions que afecten l'aglutinació espermàtica.....	64
3.1.7. Malformacions que afecten l'estabilitat del cap o de la cua....	64
3.2. Ultraestructura i classificació.....	64
3.2.1. Espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen.	65
3.2.2. Espermatozoides amb dues cues fusionades.....	66
3.2.3. Espermatozoides amb la cua enrotllada.....	66
3.2.4. Espermatozoides amb l'estructura axonemàtica incompleta..	66
3.2.5. Espermatozoides amb la beina mitocondrial alterada.....	67
3.2.6. Espermatozoides amb vesícules axonemàtiques.....	67
3.2.7. Espermatozoides amb vesiculització perifèrica de la cua.....	67
3.2.8. Espermatozoides amb citoplasma residual.....	68
3.2.9. Espermatozoides amb alteracions cefàliques.....	69
4. LES CÈL·LULES SOMÀTIQUES.....	69
- LÀMINES DE FIGURES.....	71

pàgina

DISCUSSIÓ	135
1. L'ESPERMATOZOIDE MADUR.....	135
2. LA MORFOLOGIA ESPERMÀTICA.....	137
3. LES ABERRACIONS ESPERMÀTIQUES.....	139
• <u>Capítol 2: ESTRUCTURA I ULTRAESTRUCTURA DEL CONDUCTE EPIDIDIMARI</u>	145
MATERIAL I MÈTODES	147
1. MATERIAL.....	147
2. MÈTODES.....	148
2.1. Processat de les mostres d'epidídim per ser observades al microscopi òptic.....	149
2.2. Processat de les mostres d'epidídim per ser observades al microscopi electrònic de transmissió.....	150
2.3. Processat de les mostres d'epidídim per ser observades al microscopi electrònic d'escànnig.....	151
RESULTATS	153
1. ESTRUCTURA.....	153
2. ULTRAESTRUCTURA.....	154
2.1. Cèl.lules principals.....	154
2.2. Cèl.lules basals.....	156
2.3. Cèl.lules clares.....	158
2.4. Cèl.lules estretes.....	158
2.5. Cèl.lules basòfiles.....	159
2.6. Beina músculo-conjuntiva.....	159
- LÀMINES DE FIGURES.....	161
DISCUSSIÓ	173

	pàgina
• Capítol 3: QUALITAT DE L'ESPERMA EPIDIDIMÀRIA	177
MATERIAL I MÈTODES	179
1. MATERIAL.....	179
2. MÈTODES.....	179
2.1. Mètode d'anàlisi de la vitalitat espermàtica.....	180
2.2. Mètode d'anàlisi de la resistència osmòtica dels acrosomes.....	180
2.3. Mètode d'anàlisi de l'estabilitat cefàlica dels espermatozoides.....	181
2.4. Mètode d'anàlisi de la morfologia espermàtica i de les aberracions espermàtiques.....	181
2.5. Mètode d'anàlisi de l'aglutinació espermàtica.....	182
- TAULES DE MÈTODES.....	184
RESULTATS	191
1. VITALITAT ESPERMÀTICA.....	191
2. RESISTÈNCIA OSMÒTICA DELS ACROSOMES.....	191
3. ESTABILITAT CEFÀLICA DELS ESPERMATOZOIDES.....	192
4. MORFOLOGIA ESPERMÀTICA.....	192
5. MALFORMACIONS ESPERMÀTIQUES.....	194
5.1. Espermatozoides amb la cua doblegada per la peça de connexió.....	195
5.2. Espermatozoides amb la cua doblegada per la peça intermèdia.....	195
5.3. Espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell Jensen.....	196
5.4. Espermatozoides amb la cua doblegada per la peça principal.....	197
5.5. Espermatozoides amb la cua enrotllada.....	197
5.6. Espermatozoides amb les cues fusionades.....	198
5.7. Espermatozoides macrocefàlics i espermatozoides microcefàlics.....	199
6. AGLUTINACIÓ ESPERMÀTICA.....	199
- LÀMINES DE FIGURES.....	201
- TAULES I GRÀFICS.....	247
DISCUSSIÓ	277
• CONCLUSIONS	283
• BIBLIOGRAFIA	289

INTRODUCCIÓ

INTRODUCCIÓ.

1. OBJECTIUS DEL TREBALL I ORGANITZACIÓ DE LA MEMÒRIA.

1.1. Antecedents i objectius del treball.

Aquesta memòria recull les dades més significatives d'un treball de recerca que s'emmarca dins la línia d'investigació del Grup de Biologia de la Reproducció de la Universitat de Girona. Des de l'any 1987, aquest grup d'investigació s'ha centrat en l'estudi de la biologia de la reproducció porcina i, molt especialment, en les repercussions que, sobre la qualitat espermàtica dels ejaculats, poden tenir les variacions en el ritme d'extraccions de semen. Aquests estudis han demostrat que, quan els mascles reproductors porcins són sotmesos a ritmes d'extraccions de semen elevats, superiors a tres cops per setmana i sense períodes de repòs sexual, la qualitat de l'esperma ejaculada s'altera notablement i la fertilitat del mascle disminueix de forma sensible. En aquests mascles estressats per l'elevada freqüència d'extraccions de semen, les principals alteracions observades en l'esperma ejaculada han estat les següents: augment del percentatge d'espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal o distal, descens de la motilitat espermàtica i augment específic del percentatge de determinades malformacions espermàtiques, com per exemple, la de cua doblegada per l'anell de Jensen. La revisió bibliogràfica de les dades publicades, en relació a les alteracions produïdes en la qualitat espermàtica de l'ejaculat de mascles reproductors porcins estressats pel ritme d'extraccions de semen, suggereix que aquestes alteracions poden presentar un origen epididimari.

Un mascle reproductor porcí produeix, per terme mig, uns quinze mil milions d'espermatozoides diaris. Si no és sotmès a cap extracció de semen, l'esperma satura la capacitat d'emmagatzemament de la cua de l'epidídim al cap de sis dies. En una ejaculació, la cua de l'epidídim es buida en un 60%, de manera que si hom força el mascle a tres o quatre extraccions de semen en intervals de poques hores, s'aconsegueix buidar totalment la cua de l'epidídim. El buidat de la cua de l'epidídim estimula la producció espermàtica testicular i accelera el trànsit epididimari de l'esperma. L'esperma epididimària que, en condicions normals, recorre l'epidídim durant vuit dies aproximadament, en condicions d'estrès és forçat a un recorregut més ràpid per les

regions cefàlica i corporal d'aquest òrgan. Aquest fet condueix a l'emmagatzemament a la cua de l'epidídim d'esperma immadura o que no ha madurat correctament. En aquests mascles estressats, l'ejaculació retirarà l'esperma de la cua epididimària i l'esperma obtinguda presentarà unes característiques molt semblants a l'esperma immadura present a les regions cefàlica o corporal de l'epidídim. Així doncs, l'anàlisi de la qualitat de l'esperma ejaculada pot ser utilitzada com una prova per al diagnòstic de l'estrès produït en els mascles reproductors porcins en ser sotmesos a ritmes elevats d'extraccions de semen. En aquest sentit, hom podrà assenyalar que, com més s'assembla la qualitat de l'esperma ejaculada a la de l'esperma de les regions cefàlica, corporal o caudal de l'epidídim, més estressats estaran els mascles.

Si hom vol establir el grau d'estrès d'un mascle a partir de la semblança entre la qualitat de l'esperma ejaculada i la de l'esperma epididimària, cal descriure, en primer lloc, les morfologies espermàtiques de l'ejaculat i de les tres regions del conducte epididimari en mascles reproductors porcins sans i sexualment madurs. D'una banda, la descripció exhaustiva de la morfologia dels espermatozoides madurs, immadurs i aberrants en ejaculats de mascles reproductors porcins, ens permetrà tenir un coneixement ampli de les malformacions espermàtiques presents en l'ejaculat, tant si aquestes tenen un origen primari (testicular) com si el tenen secundari (epididimari). Per altra banda, l'estudi de les variacions de la qualitat espermàtica en les tres regions de l'epidídim ens permetrà, fonamentalment, observar l'evolució de les característiques de l'esperma al llarg del trajecte epididimari i establir el conjunt de malformacions espermàtiques d'origen secundari (epididimari). L'objectiu d'aquest treball és caracteritzar la qualitat de l'esperma ejaculada i la qualitat de l'esperma a les regions cefàlica, corporal i caudal de l'epidídim de mascles reproductors porcins sans i sexualment madurs.

1.2. Organització de la memòria.

La memòria conté les parts essencials de tot treball d'investigació, és a dir, la Introducció, el Material i Mètodes, els Resultats, la Discussió, les Conclusions i la Bibliografia. La metodologia emprada per abordar el treball, així com els resultats obtinguts i la seva discussió, s'han agrupat en tres capítols titulats: Morfologia espermàtica de l'ejaculat, Estructura i ultraestructura del conducte epididimari, i Qualitat de l'esperma epididimària.

A partir de la revisió bibliogràfica corresponent, en la INTRODUCCIÓ s'assenyalen: (a) les tècniques més emprades per a l'obtenció de l'esperma ejaculada i epididimària, (b) les

característiques generals de l'esperma ejaculada i de l'epididimària, (c) les tècniques utilitzades per a l'anàlisi de la qualitat espermàtica, i (d) les característiques morfofuncionals del conducte epididimari. Per abordar aquestes qüestions, la revisió bibliogràfica s'ha centrat, fonamentalment, en les espermatologies humana, bovina i dels rosegadors; tres dels camps en què s'han produït els principals avenços en el coneixement científico-tècnic de l'espermatologia.

El primer capítol, MORFOLOGIA ESPERMÀTICA DE L'EJACULAT, s'estructura en tres apartats: Material i Mètodes, Resultats i Discussió. En el de Material i Mètodes s'exposen les característiques dels exemplars estudiats, les tècniques utilitzades per a l'obtenció i conservació de les mostres i els mètodes seguits per al processat de les mostres per a microscòpia òptica i microscòpia electrònica. En els Resultats s'exposen l'estructura, morfologia externa i ultraestructura de l'espermatozoide madur, de l'espermatozoide immadur i dels espermatozoides aberrants. En la Discussió s'entra en aquells aspectes dels resultats susceptibles d'interpretacions morfofuncionals diverses. La Discussió s'ha organitzat en tres parts: l'espermatozoide madur, la morfologia espermàtica i la teratozoospermia.

En el segon capítol, ESTRUCTURA I ULTRAESTRUCTURA DEL CONDUCTE EPIDIDIMARI, es distingeixen, també, tres apartats: Material i Mètodes, Resultats i Discussió. En l'apartat de Material i Mètodes es descriuen les característiques dels mascles utilitzats, els mètodes emprats per a l'obtenció, la conservació i el transport de les mostres, i els protocols seguits per al processat de les mostres per a microscòpies òptica i electrònica. Els Resultats s'han organitzat en dues parts. En la primera part es descriu l'estructura del conducte epididimari en les tres regions de l'epidídim (cap, cos i cua), i en la segona part es caracteritzen ultraestructuralment les diverses tipologies cel·lulars de l'epiteli del conducte. En la Discussió s'exposen les dades obtingudes per altres autors en aquells aspectes més rellevants de la morfologia del conducte epididimari i es proposa una interpretació morfofuncional del desenvolupament de l'epiteli d'aquest conducte.

En el tercer capítol, QUALITAT DE L'ESPERMA EPIDIDIMÀRIA, distingim tres apartats: Material i Mètodes, Resultats i Discussió. En l'apartat de Material i Mètodes es descriuen les tècniques utilitzades per valorar els diferents paràmetres de la qualitat espermàtica (motilitat, concentració, vitalitat, resistència osmòtica dels acrosomes, morfologia, etc.). En els Resultats es comparen els valors obtinguts en les tres regions de l'epidídim i, a partir del test de la χ^2 de Pearson, s'estableix el grau de significació de les diferències observades. En la Discussió, es comparen els resultats obtinguts amb les dades aportades per altres autors i s'estableixen quins dels paràmetres de la qualitat espermàtica són susceptibles de variació al llarg del recorregut de l'esperma per l'epidídim.

En les CONCLUSIONS es recullen, de forma molt breu, les dades més rellevants del treball realitzat i en la BIBLIOGRAFIA se citen aquelles obres consultades en l'elaboració del treball.

2. OBTENCIÓ I CARACTERÍSTIQUES GENERALS DE L'ESPERMA EJACULADA.

2.1. Obtenció.

Per poder analitzar l'esperma de l'ejaculat, la primera operació necessària és l'obtenció o recollida del semen que, en porcíns, té unes característiques molt especials. En primer lloc, cal un entrenament del mascle reproductor porcí que consisteix en la preparació metòdica de l'animal per saltar sobre un cavallet o maniquí, de manera que es faciliti l'obtenció de l'esperma sense produir-li cap tipus d'alteració. En aquest procés s'han de tenir en compte tres elements que hi intervenen de manera decisiva: la sala de recollida, l'operador i l'equip utilitzat. L'animal ha de trobar un lloc amb un ambient adequat on no es pugui distreure i es centri en el salt, on se li desencadenin els reflexos condicionats estimulants de la seva libido i adquireixi l'hàbit de saltar de forma ràpida i metòdica, amb un comportament sexual normal i sense alteracions. L'operador ha d'observar el comportament de cada animal, tenint en compte el seu caràcter i realitzant totes les operacions amb cura i higiene. Finalment, tot el material emprat durant el procés ha d'estar preparat en condicions higièniques i sanitàries per tal que la qualitat del semen sigui òptima.

En principi, la recollida de semen en porcí es pot realitzar mitjançant tres tècniques: l'electroejaculació, la vagina artificial i el mètode manual. L'aplicació de l'electroejaculació en el porc és complicada i no resulta pràctica, sobretot per la intolerància d'aquest animal i el risc generat pel seu caràcter poc tractable, ni tan sols sotmetent-lo prèviament a anestèsia s'aconsegueixen millors resultats (Roth i Smidt, 1970; Bonadonna, 1989). Des de fa molt temps s'han utilitzat diversos models de vagina artificial, generalment molt similars entre sí (McKenzie i col., 1938; Polge, 1956; Aamdal, 1959; Niwa i col., 1959; Melrose i O'Hagan, 1959; Radford, 1961; Smidt, 1965); però, avui dia, la tècnica de la vagina artificial en porcí està pràcticament en desús (Martín, 1982). La tècnica més utilitzada actualment és el mètode manual amb guant de goma (Hancock i Howel, 1959).

En la pràctica s'utilitza un guant estèril molt fi que no disminueixi gaire la sensibilitat de la mà. Durant l'ejaculació (5-10 minuts), el semen cau lliurement dins d'un termos de recollida ben esterilitzat i pre-escalfat a la temperatura del semen (37°C), per tal d'evitar el xoc tèrmic. L'ejaculat de porcí està constituït, en un sentit ampli, per una part gelatinosa (~15%), procedent de la secreció de les glàndules de Cowper, que sembla tenir per funció obturar el coll uterí a fi d'impedir el reflux de l'esperma, i per una altra part líquida (~85%) on es troben els espermatozoides (Aamdal, 1959; Martín, 1982). Per això, sistemàticament s'ha de col·locar sobre el termos col·lector una gasa estèril per filtrar la part gelatinosa de l'ejaculat, evitant que es barregi amb la part líquida i formi un gran coàgul gelatinós que englobaria tot l'ejaculat. Segons els tècnics, els principals avantatges del mètode manual són la simplicitat i les millors condicions d'ejaculació de l'animal, que es tradueixen en una major efectivitat, ja que s'obté un major volum de semen i un nombre total d'espermatozoides recollits per mm³ superior (Niwa i col., 1959; Jondet, 1971; King i MacPherson, 1973). Per altra banda, és un sistema més higiènic que evita contaminacions indesitjables. Val a dir que, tant la recollida de les mostres d'esperma, com la seva posterior manipulació, s'han de fer el més acuradament possible, ja que aquests passos són fonamentals per obtenir després resultats fiables de les anàlisis de semen, eliminant errors potencials i evitant la possible pèrdua d'informació.

El semen fresc de porcí es conserva a temperatura ambient durant 2 o 3 hores. Per ara, degut al fet que la tècnica de congelació del semen de porcí no és una realitat pràctica, el procediment que s'utilitza per a la seva conservació és la refrigeració (Paquignon, 1984). El semen refrigerat es conserva a dues temperatures: 5°C i 15°C; amb la primera calen substàncies crioprotectors com rovell d'ou i/o llet, i amb la segona simplement un medi salí. Si bé la temperatura de 5°C és recomanada pels japonesos (Harayama i col., 1988; Bamba i Cran, 1992), la temperatura de 15°C és la més utilitzada en tots els països del món, tant en els centres d'inseminació artificial (IA) com en les explotacions porcines (Paquignon, 1984; Rasbech, 1984). A 15°C la fertilitat obtinguda és lleugerament superior (Martín, 1982; Martínez, 1985; Weltze i Petzoldt, 1992) i també més còmoda i econòmica la conservació de les dosis seminals. Per tal de poder conservar fins a uns 3 o 4 dies el semen de porcí en bones condicions, s'afegeix a la fracció espermàtica un medi diluent-conservador adequat (MR-A, Kiew) en una dilució de 1/10 i es disminueix lentament la temperatura fins als 15°C. Avui dia, la forma més utilitzada per practicar la dilució és afegir a l'ejaculat el volum total de diluent necessari (prèviament determinat), i a partir d'aquí es distribueix en els flascons de conservació de semen.

El trasllat fins al laboratori dels flascons amb les mostres seminals refrigerades a 15°C es fa emprant petits contenidors termoïllants ben precintats. Les mostres es fan arribar al

laboratori el mateix dia en què han estat recollides i es guarden en una nevera termorreguladora a 15°C.

2.2. Característiques generals.

L'ejaculat de porcí es caracteritza pel gran volum i per l'elevada proporció de material gelatinós que conté. En l'ejaculat del mascle reproductor porcí es poden distingir tres fraccions: (1) una primera fracció denominada PREESPERMÀTICA, constituïda per les secrecions de la pròstata, vesícules seminals i alguns grumolls de textura gelatinosa procedents de les glàndules bulbouretrals o de Cowper; aquesta fracció és força fluïda i transparent, no conté espermatozoides i té un volum aproximat d'uns 10 ml; (2) una segona fracció denominada ESPERMÀTICA, o també "fracció rica en espermatozoides", constituïda per secrecions de les vesícules seminals i de la pròstata i per espermatozoides en gran concentració (de 500×10^6 a 1000×10^6 per ml), procedents de les contraccions que es produeixen en el cauda epididimari; aquesta fracció és un líquid espès i cremós, de color blanc lletós, i el volum oscil·la de 30 a 100 ml, depenent dels factors que influeixin en la producció espermàtica; i, (3) una tercera fracció denominada POSTESPERMÀTICA, o també "fracció pobre en espermatozoides", constituïda per molt poca quantitat d'espermatozoides ($<100 \times 10^6$ per ml) i, principalment, per les secrecions de la pròstata i de les glàndules bulbouretrals o de Cowper, sobretot al final de la fracció; aquesta darrera fracció és de color blanquinós transparent, amb grumolls gelatinosos i té un volum aproximat de 150-200 ml (Martín, 1982; Rasbech, 1984; Bonadonna, 1989; Cameron, 1990).

La mitjana del volum total ejaculat oscil·la normalment entre 250 i 300 ml. Segons Martín (1982), el volum mig de l'ejaculat complet d'un mascle porcí jove de 9 mesos d'edat és d'uns 200 ml i el d'un adult a partir dels 14-15 mesos és de 300 ml, amb variacions de 100 a 500 ml (o més), depenent de les condicions individuals i ambientals (Setchell, 1991). Segons Rasbech (1984), el volum i concentració espermàtics donen valors baixos en mascles porcins de 5-8 mesos edat (pubertat), però augmenten gradualment fins als 18 mesos d'edat, que és quan assoleixen la plena maduresa espermatozògica; també assenyala que el volum ejaculat pot variar de 100-200 ml en mascles joves a 200-300 ml en mascles adults. La mitjana del volum de semen ejaculat en l'espècie porcina és molt elevada en comparació amb altres espècies animals. En cavalls, el volum de l'ejaculat oscil·la entre 30 i 150 ml (Rasbech, 1984), 60 i 300 ml (Bonadonna, 1989) o 20 i 300 ml (Setchell, 1991); en toros es troben valors entre 2 i 10 ml (Rasbech, 1984; Setchell, 1991) o

5 i 8 ml (Garner i Hafez, 1989); en bous els valors oscil·len entre 0,8 i 3 ml (Rasbech, 1984), 0,8 i 1,2 ml (Garner i Hafez, 1989) o 0,5 i 2 ml (Setchell, 1991); en bocs es troben valors entre 0,5 i 2,5 ml (Garner, 1991; Setchell, 1991); en cobais Bonadonna (1989) va trobar valors d'aproximadament 0,5 ml; en galls els valors oscil·len entre 0,2 i 0,5 ml (Garner i Hafez, 1989); i, en humans els valors normals de referència varien entre 1,5 i 5,5 ml (Keel, 1990), 2 i 6 ml (Ludwig i Frick, 1990) o 2,5 i 8 ml (Taymor, 1990).

3. OBTENCIÓ I CARACTERÍSTIQUES GENERALS DE L'ESPERMA EPIDIDIMÀRIA.

3.1. Obtenció.

D'acord amb Einarsson (1971), l'esperma procedent de l'epidídim de porcí es pot obtenir per dues vies diferents, *post mortem* o *in vivo*.

Per recollir *post mortem* l'esperma epididimària se sacrifica l'animal, se'n separen els testicles i els epidídims, i es comprova macroscòpicament que tenen una morfologia normal. Els testicles i els epidídims són introduïts en un recipient termoïllant i conduïts al laboratori on es practicarà l'extracció de l'esperma, a ser possible, durant la primera hora després del sacrifici. Abans d'extreure l'esperma epididimària cal netejar la superfície externa de l'epidídim. A continuació es fan petites incisions amb un escalpel a través de segments del conducte ben plens (inflats) i es recull l'esperma vessada amb un tub capil·lar de vidre (Einarsson, 1971; Harayama i Kato, 1992).

L'obtenció *in vivo* de l'esperma epididimària és força més complicada, perquè s'ha de practicar un drenatge (fistula o cànula) en el conducte deferent i això implica operar l'animal. La recollida *in vivo* del contingut de la cua epididimària s'ha dut a terme mitjançant la introducció d'una fistula en el conducte deferent de bous (White i col., 1959; Tadmor i col., 1969; Voglmayr i col., 1977), toros (Amann i col., 1963; Bennett i Rowson, 1963), rates (Gilmore i col., 1971) i porcs (Wierzbowski i Wierzchos, 1969; Einarsson, 1971; Johnson i Pursell, 1975). En el treball d'Einarsson i Funkquist (1979) es descriu amb molt de detall la tècnica operatòria per a practicar fistules en el conducte deferent de mascles porcins, a fi de poder recollir l'esperma de la cua epididimària.

Val a dir que no s'observen diferències estadísticament significatives entre els resultats de les anàlisis realitzades a partir de l'esperma epididimària de porcí obtinguda via *post mortem* o via *in vivo*, practicant una fistula en el conducte deferent (Einarsson, 1971).

3.2. Característiques generals.

L'esperma extreta del conducte epididimari de porcí és un fluid dens, d'aspecte cremós i de color blanquinós, molt similar al que procedeix de la fracció espermàtica de l'ejaculat.

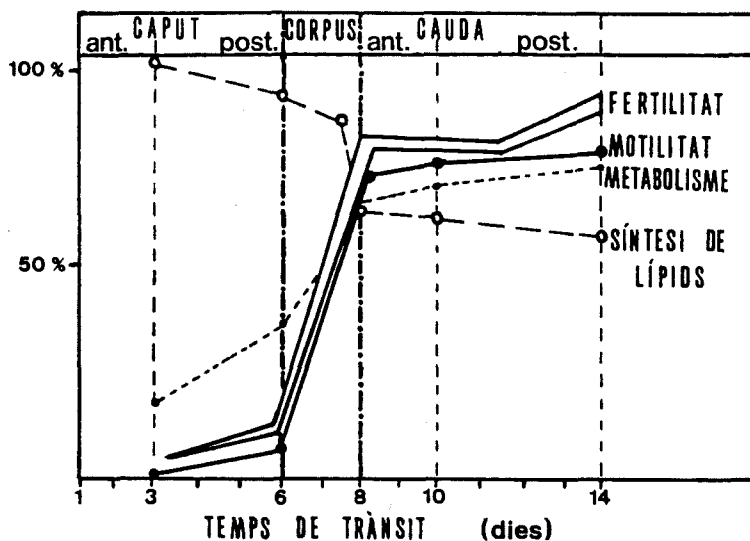
Durant el recorregut per l'epidídim, fonamentalment en les dues primeres regions (caput i corpus), els espermatozoides segueixen un complex procés de maduració que consisteix a dotar l'espermatozoide de l'aptitud de moure's eficaçment (motilitat progressiva) i de poder fecundant (Holtz i Smidt, 1976). A mesura que passen per l'epidídim, els espermatozoides experimenten una sèrie de canvis morfològics, bioquímics i fisiològics. Alguns d'aquests canvis es consideren intrínsecs a la pròpia evolució del gàmeta (Jones i col., 1981) i d'altres s'han atribuït a la interacció seqüencial amb les secrecions específiques de l'epiteli epididimari, acumulades en les diferents regions de l'epidídim (Bedford, 1975; Orgebin-Crist i col., 1975 i 1981; Kohane i col., 1980; Cooper, 1986 i 1990; Anakwe i col., 1990; Burgos i col., 1992). El procés de maduració epididimària comporta canvis en diversos aspectes morfo-funcionals de l'espermatozoide (Esquema 1) que, considerant els mamífers en general, són bàsicament els següents: (a) modificacions dels patrons de moviment (adquisició del potencial de motilitat progressiva); (b) alteració dels patrons metabòlics i de l'estat estructural dels orgànuls específics de la cua; (c) canvis en la cromatina nuclear i modificació de la forma de l'acrosoma; (d) pèrdua progressiva d'aigua i augment de la gravetat específica; (e) migració al llarg de la peça intermèdia i alliberament de la gota citoplasmàtica; i (f) modificacions en la superfície interna i externa de la membrana plasmàtica (reorganització estructural i canvis en la composició que determinen variacions en les seves propietats biofísiques, com, per exemple, la fluïdesa i els sistemes de transport a través de membrana). Tot aquest seguit de canvis fan que l'esperma epididimària, així com també, sovint, l'esperma ejaculada, contingui un conjunt heterogeni de cèl·lules espermàtiques que varien en grau de maduració i que, per tant, presenten diferent morfologia i potencial fecundant.

L'obtenció del potencial de motilitat progressiva i de capacitat fecundant dels espermatozoides durant el trànsit per l'epidídim és un fenomen gradual (Esquemes 1 i 2).

En els espermatozoides extrets de la regió inicial de l'epidídim la motilitat és nul·la, amb dèbils vibracions o moviments circulars, i, en avançar pel corpus i cauda epididimaris, canvia gradualment a rotatòria i progressiva. En la majoria d'espècies estudiades, els espermatozoides procedents de la regió més proximal del caput no poden fecundar, en canvi, sí que presenten capacitat fecundant aquells que s'extreuen del corpus i/o cauda (Esquema 2). En ratolins (Hoppe, 1975) i en humans (Hinrichsen i Blaquier, 1980; Moore i col., 1983; Cooper, 1990), en condicions fisiològiques normals, només els espermatozoides del cauda epididimari presenten el potencial de capacitat fecundant. En altres espècies com rates, hámsters, conills i bous es troben espermatozoides amb capacitat fecundant a nivells més o menys proximals o distals del corpus epididimari. En porcs s'ha observat que els espermatozoides comencen a adquirir la capacitat de fecundar l'oòcit en la part més distal del caput epididimari (Dacheux i Paquignon, 1980). Cal remarcar, però, que la màxima proporció d'espermatozoides capaços de fecundar (fèrtils) es localitza sempre en la regió epididimària caudal (Esquema 2).

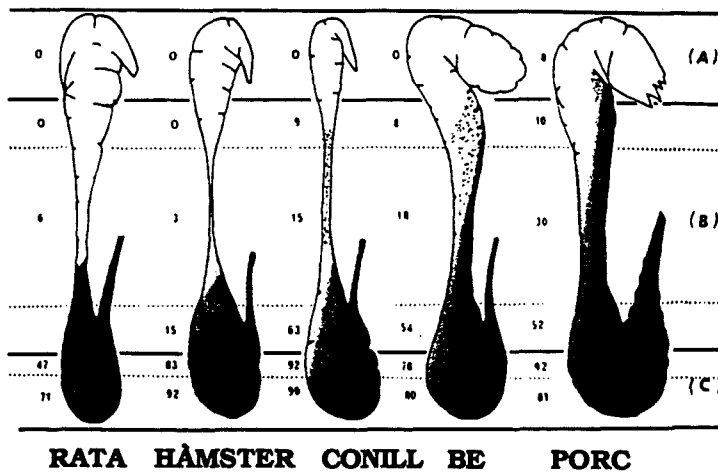
Esquema 1.

Esquema que mostra els canvis en la capacitat fecundant (fertilitat), motilitat, metabolisme i síntesi de lípids que experimenten els espermatozoides de mascle reproductor porcí a mesura que transiten per les tres regions de l'epidídim (caput, corpus i cauda). (Segons Dacheux i Paquignon, 1980).



Esquema 2.

Esquema que mostra el desenvolupament de la capacitat fecundant dels espermatozoides procedents de les tres regions epididimàries (A, caput; B, corpus; C, cauda) en diferents espècies de mamífers. Els números representen l'índex de fertilitat i les àrees fosques indiquen el lloc on es troben espermatozoides fèrtils. (Segons Dacheux i Paquignon, 1980).



4. ANÀLISI DE LA QUALITAT ESPERMÀTICA.

Històricament, l'anàlisi de semen s'ha basat en tècniques subjectives per a la determinació del nombre d'espermatozoides i l'estimació de la motilitat espermàtica. En els darrers anys, a causa del perfeccionament de les tècniques d'inseminació i al desenvolupament de la fecundació in vitro (FIV), sobretot en humans, s'ha fet necessari disposar d'anàlisis morfològiques i funcionals de l'esperma amb la màxima exactitud i fiabilitat possibles. La qualitat de l'esperma, més que la quantitat, són els factors claus en la determinació de la fertilitat del mascle. L'estudi de la biologia de la reproducció del mascle ha anat experimentant ràpids avenços i cada vegada es reconeix més la necessitat de l'avaluació objectiva de les característiques quantitatives i qualitatives de l'esperma i de les variables relacionades amb la funció secretora de les glàndules accessòries. El progrés de la informàtica i de la video-fotomicroscòpia en l'anàlisi de certs paràmetres de la qualitat del semen han millorat espectacularment l'objectivitat de la mesura i han permès d'obtenir informació més fiable i fàcilment accessible.

A continuació es repassen algunes de les tècniques de laboratori més interessants que es poden realitzar per tal d'obtenir un estudi complet de les característiques de l'esperma. La majoria d'aquestes tècniques s'han desenvolupat, fonamentalment, per a l'estudi de l'esperma humà, però, totes elles poden ser aplicades directament o amb algunes modificacions a l'esperma de moltes altres espècies. També es presenten dades referents als valors normals d'alguns dels paràmetres espermàtics examinats més freqüentment, tant de porcí com d'altres espècies animals. Cal tenir en compte que molts dels valors presentats varien segons la raça, la localitat, el mètode emprat per a les anàlisis i l'experiència pràctica del tècnic que les realitza.

4.1. El pH de l'Esperma.

El pH del semen es mesura emprant paper sensible al pH (rang de 6,4 a 8,0). La utilització d'un pehàcmetre elèctric requereix més temps i no té cap avantatge sobre el mètode, més senzill, del paper indicador de pH (Ludwig i Frick, 1990).

Atenent a la bibliografia consultada, els límits acceptables de pH en l'ejaculat de porcí oscil·len entre 6,8 i 7,9, i la mitjana és de 7,1-7,2. Segons Martín (1982) el pH del conjunt total de l'ejaculat sol oscil·lar al voltant de 7,1; segons Buxadé (1984) la mitjana és de 7,2 (oscil·lant entre 6,8 i 7,8); segons Garner i Hafez (1989) el valor oscil·la entre 7,3 i 7,8; i, segons Setchell (1991) entre 6,85 i 7,90. Els valors de pH de l'ejaculat en diferents espècies

de vertebrats són similars als de porcí. Per exemple, en toros el valor de pH del semen oscil·la entre 6,4 i 7,8 segons Garner i Hafez (1989) o entre 6,48 i 6,99 segons Setchell (1991); en cavalls es troben valors entre 6,8 i 7,2 (Rasbech, 1984), 7,2 i 7,8 (Bonadonna, 1989) o 6,2 i 7,8 (Setchell, 1991); en bous varia entre 5,9 i 7,3 (Garner i Hafez, 1989; Setchell 1991); en galls entre 7,2 i 7,6 (Garner i Hafez, 1989); i en humans els valors oscil·len entre 6,9 i 7,4 segons Álvarez (1989) o entre 7,2 i 7,8 segons altres autors (OMS, 1989; Keel, 1990; Ludwig i Frick, 1990). Les variacions extremes en els valors de pH poden indicar infecció o estats patològics causats per disfuncions de les glàndules sexuals accessòries (Martín, 1982; OMS, 1989; Keel, 1990).

4.2. La Motilitat Espermàtica.

Un dels trets més característics dels espermatozoides és la capacitat que tenen de moure's mitjançant els impulsos o batecs oscil·lants de la seva cua. La motilitat es considera un dels criteris més importants en la valoració de la capacitat fecundant d'un ejaculat. A fi de poder determinar la motilitat espermàtica s'han desenvolupat diverses tècniques que, actualment, hom diferencia en subjectives i objectives.

Les avaluacions subjectives clàssiques de la motilitat inclouen estimacions quantitatives i qualitatives a partir de l'estudi en fresc de mostres seminals ben homogeneïtzades. En la valoració quantitativa, es distingeix el percentatge d'espermatozoides mòbils enfront dels immòbils (*motilitat global*). En la valoració qualitativa, a més, es defineix el tipus de moviment, o sigui, la velocitat (ràpida o lenta) i direcció (progressió lineal o no) dels espermatozoides mòbils (*cinètica o cinemàtica*). Generalment, els espermatozoides es classifiquen segons el tipus de moviment en 4 categories: espermatozoides amb motilitat progressiva ràpida i lineal, espermatozoides amb motilitat progressiva lenta lineal o no lineal, espermatozoides amb motilitat no progressiva i espermatozoides immòbils. El mètode més simple per valorar la motilitat dels espermatozoides consisteix a agitar i escalfar la mostra d'esperma fins a 37°C, col·locar una gota entre porta i cobreobjectes i observar al microscopi de contrast de fases a 400X; és convenient examinar almenys 10 camps i 3 o 4 mostres d'esperma diferents; els espermatozoides mòbils observats en el camp microscòpic es van classificant segons les 4 categories esmentades i, finalment, s'expressa el resultat en forma de percentatge (calculat a partir de la mitjana dels recomptes realitzats). Malgrat la naturalesa subjectiva d'aquestes valoracions, amb certa experiència, aquest mètode pot donar estimacions raonables de la motilitat dins un nivell d'error acceptable. Cal tenir en compte que els valors de motilitat tendeixen a ser

sobreestimats si els nombres són alts i subestimats si els nombres són baixos (Krause i Rothauge, 1981). El terme específic emprat per designar una motilitat espermàtica molt baixa és astenozoospermia.

En els darrers anys, s'han introduït diversos mètodes objectius que han permès unes determinacions més acurades i fiables dels patrons de motilitat dels espermatozoides (Phillips, 1972; Jecht i Russo, 1973; Dubois i col., 1975; Katz i Dott, 1975; Sokoloski i col., 1977; Makler, 1978a, b i 1980a, b; Overstreet i col., 1979; Katz i Overstreet, 1981; Kamidono i col., 1983; Amann, 1988; Boyers i col., 1989; Purvis i col., 1989; Holt, 1993).

Sokoloski i col. (1977) van descriure un mètode d'anàlisi turbidimètrica per a l'avaluació objectiva de la motilitat espermàtica, que es basa en el fet que els espermatozoides nedaran cap amunt des d'una suspensió cel·lular concentrada al fons d'una cubeta òptica, coberta per una capa de medi adequat. Aquesta migració espermàtica donarà lloc a un increment de la turbidesa del medi que podrà ser mesurat com un increment d'absorbància. Malgrat els avantatges de ser un mètode simple i ràpid i de proporcionar una valoració indirecta de la proporció d'espermatozoides mòbils, no sol utilitzar-se perquè és força imprecís i no permet analitzar la motilitat dels espermatozoides individualment.

La determinació quantitativa i qualitativa del moviment espermàtic derivada d'observacions de cèl·lules individuals és més precisa i fiable que la simple valoració indirecta de la proporció d'espermatozoides mòbils totals (Mortimer, 1990). La utilització de la cambra de Makler i l'aplicació de la informàtica i del video a l'anàlisi de semen (sistemes CASA, *Computer-Assisted Semen Analysis*) han millorat molt la determinació de la motilitat espermàtica. Aquests sistemes automatitzats, que permeten valorar directament la motilitat, arriben a mesurar, entre altres paràmetres, el percentatge d'espermatozoides mòbils amb moviment progressiu, la velocitat lineal, la velocitat curvilínia, la velocitat mitjana, la linearitat del moviment, el moviment oscil·latori, l'amplitud del desplaçament lateral del cap i la freqüència dels batecs transversals.

Entre la valoració indirecta de la motilitat pel mètode d'anàlisi turbidimètrica i la valoració directa mitjançant sistemes automatitzats molt sofisticats, hi ha altres mètodes, més senzills i menys costosos, que encara són àmpliament utilitzats. La fotomicrografia de llarga exposició (Rothschild, 1953), la microcinematografia (Gray, 1958) i l'observació directa assistida per un cronòmetre (Harvey, 1960), han estat alguns dels mètodes més utilitzats en la valoració directa de la motilitat espermàtica. Durant els darrers anys, la videomicrografia ha esdevingut el mètode d'elecció a causa del cost relativament baix i de l'eliminació dels retards causats pel processat de les pel·lícules.

En el mètode de fotomicrografia de llarga exposició, els espermatozoides mòbils deixen traces sobre un negatiu de pel·lícula revelat i la velocitat s'obté mesurant les longituds de les traces o trajectòries deixades pels espermatozoides mòbils durant un temps d'exposició d'1 segon (Janick i MacLeod, 1970). Katz i Dott (1975) van establir una fórmula simple per derivar la velocitat espermàtica a partir de la freqüència amb què les trajectòries dels espermatozoides mòbils creuen les diagonals marcades sobre una ampliació del negatiu de la pel·lícula fotogràfica. A causa de l'interès creixent per la velocitat i pels patrons del moviment espermàtic, Overstreet i col. (1979) van desenvolupar un sistema més pràctic per a l'aplicació clínica rutinària de la fotomicrografia de llarga exposició conegut com a TEP (*Timed-Exposure Photomicrography*). S'han utilitzat fotografies Polaroid en lloc de negatius de pel·lícula (Aitken i col., 1982), i així s'han eliminat els retards causats pel revelat de les pel·lícules. A més, s'han desenvolupat sistemes semiautomatitzats per a l'anàlisi de les imatges obtingudes pel mètode TEP, que permeten mesurar ràpidament i acuradament les longituds i amplades de les trajectòries dels espermatozoides, combinant-ho normalment amb el càlcul dels valors mitjans de la població de cèl·lules analitzades (Mortimer, 1986).

El desenvolupament de la cambra de Makler (Sefi-Medical Instruments, Haifa, Israel) ha representat un gran avenç en aquest camp. La cambra de Makler està dissenyada especialment per a la determinació de la concentració i motilitat espermàtiques a partir de mostres seminals no diluïdes (Makler, 1978b i 1980a). Gràcies a la seva profunditat ben definida i constant (10 μm), els espermatozoides poden ser visualitzats en un únic pla focal i es poden fotografiar mentre naden paral·lelament al pla de la pel·lícula fotogràfica. Es recomana emprar un volum de mostra de 5 a 10 μl a fi d'aconseguir la mínima incidència de corrent dins la mostra (Mortimer, 1990). Makler (1978a i 1980b) va descriure un mètode fotomicrogràfic alternatiu per a l'avaluació dels espermatozoides en moviment que es coneix amb el nom de MEP (*Multiple-Exposure Photomicrography*) o fotomicrografia d'exposició múltiple. En aquesta tècnica, la cambra de Makler amb la mostra d'esperma es col·loca sobre la platina d'un microscopi de contrast de fases, que té acoblada una màquina fotogràfica, Polaroid en les versions recents (Kamidono i col., 1984), i un estroboscopi (disc negre amb sis ranures radials equidistants connectat a un motor elèctric de rotació que gira a una velocitat de 60 rpm i que se situa entre la font de llum i la platina). En el moment d'obrir l'obturador de la màquina fotogràfica, l'estroboscopi comença a rodar i l'obturador queda obert durant 1 segon; en conseqüència, la pel·lícula és exposada sis vegades a intervals de 1/6 segons. Aquest mètode proporciona un registre fotogràfic de les posicions seqüencials dels espermatozoides a intervals de 1/6 segons de forma que, els espermatozoides immòbils es veuen com imatges puntuals (amb el cap molt

brillant i la cua clarament visible), mentre que els espermatozoides amb moviment progressiu apareixen com cadenes de sis anelles corresponents a les 6 posicions successives del cap de l'espermatozoide que es va desplaçant durant 1 segon. La forma i longitud d'aquestes cadenes de sis anelles indiquen el tipus de moviment de cada espermatozoide mòbil individualment, permetent diferenciar fàcilment els espermatozoides mòbils dels immòbils. També es pot calcular la velocitat mitjana dels espermatozoides en $\mu\text{m/s}$, ja que les distàncies recorregudes pels espermatozoides en 1 segon són capturades al mateix temps. Fou a partir de la validació d'aquest sistema MEP que un període de mesura d'1 segon es va considerar adequat per a la determinació de la velocitat dels espermatozoides humans (Makler i Blumenfeld, 1980). Pel que fa a les característiques del moviment, es poden obtenir valors de la velocitat lineal (mesurant la distància en línia recta entre la primera i l'última posició del cap de l'espermatozoide en les cadenes de sis anelles) i una aproximació de la velocitat mitjana (deduïda a partir de la suma de les distàncies en línia recta que uneixen les imatges del cap en les cadenes de sis anelles). El sistema MEP també ha estat desenvolupat com un mètode semiautomatitzat que pot ajudar-se d'ordinadors per al processament informàtic de les dades (Makler i col., 1980 i 1984; Holt i col., 1985; Mathur i col., 1986); en aquest cas, la valoració de les fotografies dels espermatozoides es realitza de manera semiautomàtica sobre una targeta digitalitzada connectada a un ordinador amb un sistema d'anàlisi d'imatges (amb un llapis digital es puntegen els espermatozoides mòbils i immòbils i es ressegueixen els recorreguts dels espermatozoides mòbils). Amb l'ajuda de l'ordinador s'obtenen els paràmetres habituals (concentració i percentatge de motilitat) i, a més, la velocitat mitjana ($VM = \text{longitud recorreguda en 1 s}$), la velocitat lineal ($VL = \text{distància entre els 2 extrems del trajecte}$), l'índex de direccionalitat ($ID = VL/VM$) i la classificació dels espermatozoides per graus de motilitat a partir de la velocitat lineal.

El mètode microcinematogràfic ha estat utilitzat per estudiar la motilitat espermàtica durant gairebé quatre dècades. Els treballs clàssics de van Duijn i col. (1971) emprant microcinematografia de baixa velocitat (16 fotogrames/s), i de Phillips (1972), emprant alta velocitat (500 fotogrames/s), varen ser els precursors de l'anàlisi qualitativa de la cinemàtica de l'esperma humà. David i col. (1981) van descriure característiques específiques del moviment dels espermatozoides humans a partir d'estudis microcinematogràfics emprant velocitat moderada (50 fotogrames/s). Malgrat que la imatge i la resolució temporal que es poden obtenir per microcinematografia són millors que les obtingudes normalment per videomicrografia, l'elevat cost que comporta el procés de la microcinematografia (inclús a velocitats dels fotogrames moderades) ha fet que s'hagi reemplaçat per la videomicrografia.

El 1981, Katz i Overstreet van descriure el primer mètode per utilitzar la videomicrografia en la valoració de la motilitat espermàtica en humà. Hi ha sistemes de video semiautomatitzats assistits per ordinador per a l'anàlisi dels espermatozoides mòbils (Holt i col., 1985), si bé la semiautomatització ha tingut la seva major aplicació en el càlcul de les característiques del moviment a partir de la reconstrucció manual de les trajectòries dels espermatozoides (Mortimer i col., 1988). L'anàlisi de la motilitat espermàtica i de les característiques del moviment a partir de registres en video ha progressat molt des del mètode inicial de Katz i Overstreet (1981). Actualment els espermatozoides mòbils són seguits fotograma a fotograma a fi de reconstruir el moviment durant un període de temps determinat. Les trajectòries reconstruïdes manualment són analitzades mitjançant els mateixos mètodes que en la microcinematografia i realitzant les mesures manualment o semiautomàtica. Els sistemes d'anàlisi de la motilitat espermàtica assistits per ordinador (CASMA, *Computer-Assisted o Computer-Automated Sperm Motility Analysis*) reconstrueixen automàticament les trajectòries i n'obtenen les característiques del moviment amb gran precisió.

En els darrers anys, gràcies a la contínua evolució informàtica, ha estat possible desenvolupar sistemes d'anàlisi de l'esperma automatitzats (CASA, *Computer-Assisted Semen Analysis*) que no només han incrementat la precisió de les determinacions de la concentració i motilitat espermàtiques, sinó que, a més, ofereixen valors de la velocitat i direcció del moviment dels espermatozoides i, inclús, de la morfologia espermàtica. L'avantatge d'aquests sistemes assistits per ordinador és que proporcionen dades objectives de l'anàlisi en temps relativament curts. Els desavantatges inclouen el preu elevat i els errors potencials induïts pels paràmetres preestablerts en la programació (Knuth i col., 1987; Mortimer i Mortimer, 1988; Tuli i col., 1992) i pel nombre insuficient o excessiu d'espermatozoides de la mostra analitzada (Vantman i col., 1988). Malgrat això, trets com l'objectivitat dels resultats, la informació derivada i l'estalvi de temps d'aquests sistemes, sovint s'imposen sobre el cost, especialment si s'han de realitzar un gran nombre d'anàlisis de semen rutinàriament. Avui dia, hom disposa de diversos sistemes comercials per a l'anàlisi automatitzat de l'esperma (sistemes CASA/CASMA), com per exemple: CellSoft (Systems 2000 i 3000, i la versió Forward Progression; Cryo Resources Inc., NY, US), Hamilton-Thorn (HT-M2030 i HT-M2030 Version 7.X; Hamilton-Thorn Research Inc., MA, US), Motion Analysis CellTrak/S (Systems CTS-30 i CTS-3060; Motion Analysis Corporation, CA, US), Vicos-Sperm (Mitec GmbH, Hofolding, Germany), Labscan VI (TS Scientific, PA, US) i Speed-Sperm ATS 40 (J.C. Diffusion, France; Le Lannou i col., 1990). Existeix un nou sistema anomenat Hobson Sperm Tracker (Sense & Vision Electronic Systems Ltd., Sheffield, UK) que es basa en un sistema d'anàlisi d'imatges

dissenyat originalment per al seguiment del trànsit de carretera i que ha estat adaptat amb el software adequat per poder obtenir les característiques del moviment dels espermatozoides (Holt, 1993). Les possibilitats d'aquest darrer sistema, així com també dels anteriorment esmentats (CASA/CASMA), encara estan essent investigades i, per tant, tots aquests sistemes es veuen sotmesos a freqüents revisions i millores. Òbviament, ja sigui per utilitzar un d'aquests sistemes automatitzats, o bé per emprar les dades que proporcionen, cal estar familiaritzat tant amb els principis bàsics de l'anàlisi del moviment espermàtic com amb el sistema específic amb què es pretén treballar.

L'espectroscòpia laser-doppler emprant el sistema Lazymot (BTG-Biotechnik GmbH, Munich, Germany) és una tècnica extremadament precisa, fàcil d'utilitzar i ràpida, però té l'inconvenient de requerir un equip excessivament costós. Aquest sistema opera segons el principi doppler i mesura la freqüència dels canvis produïts per la dispersió del feix del raig làser en incidir sobre els espermatozoides mòbils (Nossal, 1971; Steiner i col., 1981). Diversos autors han provat l'exactitud, rapidesa i fiabilitat d'aquest equip per a la determinació quantitativa objectiva de la motilitat espermàtica (Dubois i col., 1975; Purvis i col., 1989). El sistema Lazymot, malgrat la seva complicada tecnologia, és molt simple de manejar i ofereix valors de diversos paràmetres: motilitat global, motilitat progressiva, velocitat mitjana global, velocitat dels espermatozoides amb moviment progressiu molt ràpid, velocitat dels espermatozoides amb moviment progressiu lent i concentració espermàtica (Ludwig i Frick, 1990).

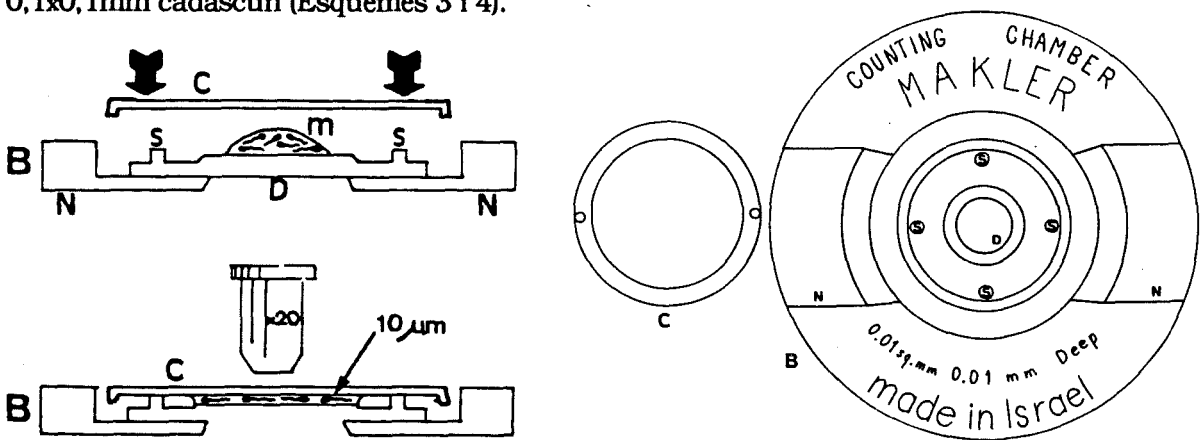
En l'avaluació quantitativo-qualitativa de la motilitat espermàtica en porcí, cal tenir present (sobretot si es treballa amb semen conservat) que els espermatozoides d'aquesta espècie perden ràpidament el moviment en disminuir la temperatura, encara que només de forma transitòria. Si s'agita la mostra d'ejaculat (centrifugació a 200 rpm durant 15 minuts), s'escalfa (augment de la temperatura fins a 37°C) o s'estimula amb productes específics per a aquesta finalitat (cafeïna, Vázquez i col., 1985), els espermatozoides recuperen fàcilment la motilitat. Segons Martín (1982) i Rasbech (1984), un ejaculat de porcí de bona qualitat ha de tenir com a mínim un 80% d'espermatozoides amb moviment progressiu. Buxadé (1984) estableix la mitjana del percentatge d'espermatozoides amb moviment progressiu en un 60% i, segons Garner i Hafez (1989), oscil·la entre el 50 i el 80%. Els valors de motilitat progressiva que s'accepten com a normals en toros oscil·len entre el 50 i el 75% (Rasbech, 1984) o el 40 i el 75% (Garner i Hafez, 1989); en cavalls varien entre el 60 i el 70% (Rasbech, 1984; Bonadonna, 1989; Garner, 1991); en bous i en galls oscil·len entre el 60 i el 80% (Rasbech, 1984; Garner i Hafez, 1989); en bocs, segons Garner (1991), la mitjana és del 80%; en cobais és del 66%, segons Bonadonna (1989); i en humans el valor normal mínim de referència acceptat per la majoria d'investigadors és

d'un 50% (Álvarez, 1989; OMS, 1989; Ludwig i Frick, 1990; Taymor, 1990), si bé per altres autors hom pot obtenir una taxa de fecundació acceptable amb percentatges molt més baixos (25 a 40%) (OMS, 1989; Keel, 1990; Ludwig i Frick, 1990).

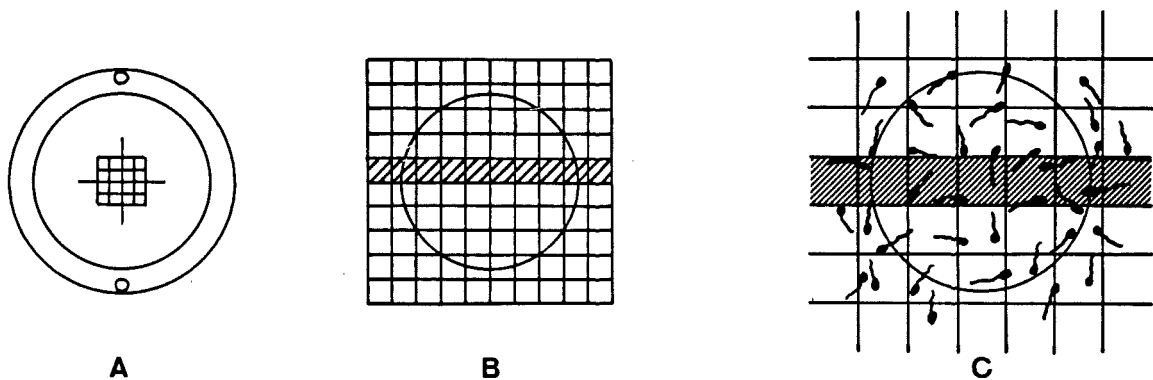
4.3. La Concentració Espermàtica.

Existeixen diverses cambres i tècniques a l'abast per comptar el nombre d'espermatozoides d'una mostra de semen. Per una banda, hi ha els hemocitòmetres, cambres habitualment emprades per comptar cèl.lules sanguínies, com són les cambres de Neubauer, de Thoma-Zeib i de Bürker-Türk. Aquestes cambres també s'utilitzen per determinar la concentració espermàtica. L'observació sol fer-se amb microscòpia de contrast de fases. Un dels desavantatges dels hemocitòmetres és la inexactitud de la determinació provocada per la variació introduïda pels usuaris en el moment de diluir la mostra abans d'omplir la cambra (Menkveld i col., 1984).

Per altra banda, actualment, s'utilitza molt la cambra de Makler (Sefi-Medical Instruments, Haifa, Israel), que està especialment dissenyada per determinar la concentració i motilitat espermàtiques amb una gran precisió, sense requerir la dilució de la mostra (Makler, 1978b i 1980a). La cambra de Makler consta de dues parts: (a) una part consisteix en una base metàl.lica circular amb dues nanses i, en el centre, un disc de vidre pla on es col.loca la mostra d'esperma ben homogeneïtzada; aquest disc té quatre suports perifèrics de 10 µm d'alçada cadascun; (b) l'altra part és un cobreobjectes de vidre circular que conté una reixeta gravada d'1mm², subdividida en 100 quadrets de 0,1x0,1mm cadascun (Esquemes 3 i 4).



Esquema 3. Esquema que mostra la cambra de Makler vista de perfil i frontalment. **B**, base metàl.lica; **C**, cobreobjectes de vidre; **D**, disc de vidre pla; **m**, mostra d'esperma; **N**, nansa; **S**, suports de quarç de 10 µm d'alçada. (Manual d'instruccions de la cambra de Makler, Sefi-Medical Instruments, Haifa, Israel).



Esquema 4. A. Cobreobjectes de vidre amb la reixeta gravada. B. Detall de la reixeta gravada d' 1 mm^2 subdividida en 100 quadrets de $0,1 \times 0,1 \text{ mm}$ cadascun. C. Els caps dels espermatozoides inclosos dins dels quadrets de l'enreixat es compten de la mateixa manera que les cèl.lules sanguínies són comptades en els hemocitòmetres. (Manual d'instruccions de la cambra de Makler, Sefi-Medical Instruments, Haifa, Israel).

Quan el cobreobjectes es col·loca sobre els 4 suports de la base, la mostra s'estén per un camp uniforme de $10 \mu\text{m}$ de profunditat. L'espai limitat per les dues superfícies i 10 quadres de la reixeta té $0,001 \text{ mm}^3$ o 10^{-6} ml ; així doncs, el nombre d'espermatozoides comptats en 10 quadrets representa la seva concentració en milions per ml. Les observacions es realitzen amb un microscopi de contrast de fases a 200X. Segons Menkveld i col. (1984), el mètode de mesura amb la cambra de Makler és més precís que amb els hemocitòmetres. Tot i que existeixen altres cambres, com, per exemple, la cambra de Horwell, la de Petroff-Hausser o la Microcell (Fertility Technologies Inc., MA, US), la cambra de Makler és la més utilitzada (Mortimer, 1990).

La turbidimetria és una tècnica força utilitzada en els centres d'inseminació artificial porcina, on és necessari determinar la concentració espermàtica d'un nombre elevat d'ejaculats en un temps mínim (Martín, 1982). Aquest mètode es basa en la correlació existent entre el nombre d'espermatozoides per unitat de volum i l'opacitat de l'esperma. És una tècnica simple i ràpida, però poc precisa. Requereix bones calibracions, tenir en compte els desajustaments de l'aparell i recompondre la taula de correlació preestablerta cada 3 o 4 mesos.

Els comptadors electrònics, molt adequats per comptar cèl.lules sanguínies amb rapidesa, quan s'utilitzen per comptar espermatozoides, tenen l'inconvenient que no poden diferenciar entre els espermatozoides i altres elements cel·lulars (cèl.lules somàtiques, grups de cèl.lules, gotes citoplasmàtiques, detritus o bacteries) (Brotherton, 1973; Read i Schnieden, 1978; Krause i Rothauge, 1981). A més, segons Krause i Rothauge (1981) i Hargreave i Nilsson (1983) és una tècnica inexacta a baixes concentracions ($<10\text{-}20$ milions/ml).

Mitjançant citofotometria de l'ADN espermàtic es pot obtenir una bona estimació del nombre d'espermatozoides d'una mostra, encara que un nombre elevat de formes gamètiques aberrants (teratozoospermia) distorsiona els resultats (Lacroix i Warter, 1982). Recentment, Evenson i col. (1993) han desenvolupat una tècnica per a la determinació ràpida i acurada de la concentració espermàtica emprant la citometria de flux que, simultàniament, permet avaluar l'estabilitat de la cromatina espermàtica. L'espectroscòpia làser-doppler, descrita anteriorment per avaluar la motilitat, també és ràpida, simple i precisa quan s'utilitza per determinar la concentració d'espermatozoides. El principal inconvenient d'aquestes tres darreres tècniques és l'elevat cost dels equips. Finalment, tal i com ja s'ha apuntat en l'apartat de motilitat, també es pot determinar la concentració espermàtica mitjançant els diversos sistemes d'anàlisi d'esperma assistits per ordinador (CASA).

Una manca total d'espermatozoides en l'ejaculat, inclús després de centrifugar, s'anomena azoospermia. Una concentració espermàtica baixa s'anomena oligozoospermia i, en la seva forma més severa, quan només es troben alguns espermatozoides isolats després de centrifugar, rep el nom de criptoospermia. Una concentració extremadament elevada s'anomena polizoospermia. Finalment, una concentració d'espermatozoides normal s'anomena normozoospermia. La mitjana de la concentració de l'esperma complet de porcí és de 300×10^6 espermatozoides/ml d'ejaculat i el nombre total d'espermatozoides emesos en cada ejaculació oscil·la entre 40×10^9 en mascles joves i $120-130 \times 10^9$ en mascles adults en plena producció (Martín, 1982; Rasbech, 1984; Martínez, 1985; Garner i Hafez, 1989; Setchell, 1991). Encara que, en comparació amb altres animals domèstics, el porc no té una elevada concentració espermàtica, el nombre total d'espermatozoides per ejaculació sovint és major. Els valors més similars als de porcí són els de cavall, que sol presentar valors de concentració espermàtica d'entre 100 i 200×10^6 /ml i un nombre total d'espermatozoides/ejaculació que oscil·la entre 3 i 30×10^9 (Rasbech, 1984; Bonadonna, 1989; Garner, 1991); en toros la concentració varia entre 800 i 2000×10^6 /ml i el nombre total oscil·la entre 3 i 25×10^9 (Rasbech, 1984; Garner i Hafez, 1989); en bous la concentració oscil·la entre 2000 i 3000×10^6 /ml (Rasbech, 1984; Garner i Hafez, 1989) o entre 2000 i 5000×10^6 /ml (Setchell, 1991) i el nombre total varia entre $1,6$ i $7,5 \times 10^9$ (Rasbech, 1984; Garner i Hafez, 1989); en bocs la concentració oscil·la entre 1000 i 5000×10^6 /ml (Setchell, 1991) i el nombre total és aproximadament de 2×10^9 (Garner, 1991); en cobais la mitjana és d'uns 13×10^9 espermatozoides/ejaculació segons Bonadonna (1989); en galls la concentració oscil·la entre 3000 i 7000×10^6 /ml i el nombre total entre $0,6$ i $3,5 \times 10^9$ (Garner i Hafez, 1989; Garner, 1991). En humans sol considerar-se la xifra de 20×10^6 espermatozoides/ml el límit inferior del normal (rang de 20-

250x10⁶/ml) i el nombre total d'espermatozoides/ejaculació oscil·la entre 0,04 i 1,2x10⁹ (Spark, 1988; Álvarez, 1989; OMS, 1989; Keel, 1990; Ludwig i Frick, 1990).

4.4. La Vitalitat Espermàtica.

La proporció d'espermatozoides vius i morts es pot determinar amb tècniques de tinció supravital. Aquestes tècniques es basen en el fet que els espermatozoides vius repel·len el colorant (ja que mantenen el potencial de membrana), mentre que els espermatozoides morts tenen la membrana plasmàtica danyada i, en conseqüència, permeten l'entrada del colorant. En l'examen microscòpic s'observen els espermatozoides vius amb el cap sense tenyir i els espermatozoides morts amb el cap tenyit (Zaneveld i Polakoski, 1977). Existeixen diverses tècniques de tinció: (a) l'ús de l'eosina sola en preparacions en fresc (Eliasson i Treichl, 1971); (b) la tinció amb blau de tripà (Sánchez, 1991); (c) la combinació d'eosina i nigrosina (Dott i Foster, 1972); (d) la doble tinció amb eosina i blau d'anilina (Shaffer i Almquist, 1948); (e) la tècnica de triple tinció -blau de tripà, marró bismark i rosa de bengala- (Talbot i Chacon, 1981; Vázquez i col., 1989 i 1992); i, (f) la tècnica amb blau de tripà o vermell congo i giemsa (Kovács i Foote, 1992). Totes aquestes tècniques de tinció són senzilles i donen bons resultats. Una vegada tenyides les preparacions d'esperma s'examinen amb el microscopi òptic convencional i es van diferenciant els espermatozoides vius (no tenyits) dels morts (tenyits). Aquestes tècniques de tinció supravital permeten diferenciar els espermatozoides immòbils però vius dels que estan morts, de manera que també serveixen per verificar l'exactitud de l'avaluació de la motilitat, donat que el percentatge de cèl·lules mortes no ha de ser més gran que el d'espermatozoides immòbils. La tècnica de la triple tinció i la del blau de tripà o vermell congo i giemsa, gràcies a les seves combinacions de colorants, a més de la vitalitat, permeten determinar l'estat de l'acrosoma (Cross i Meizel, 1989).

Un altre mètode que ens informa de la vitalitat espermàtica és la prova de fluorescència amb taronja d'acridina (Evenson i col., 1980; Tejada i col., 1984). Aquest mètode es basa en les propietats d'aquest fluorocrom, que emet color verd fluorescent quan s'uneix a l'ADN cel·lular no alterat i dóna fluorescència vermella quan s'uneix a l'ADN desnaturalitzat. Aquesta tècnica és encara més senzilla i ràpida que les tincions amb els colorants anteriorment esmentats i dóna molt bons resultats. Consisteix simplement a barrejar una gota de la mostra d'esperma i una gota de la solució de taronja d'acridina sobre un portaobjectes, cobrir-ho amb un cobreobjectes i observar el conjunt en un microscopi de fluorescència episcòpica a 400X, en una habitació fosca. Els

espermatozoides es van comptant i classificant, segons apareguin de color verd o vermell, en vius o morts, respectivament. Els caps dels espermatozoides amb ADN normal presenten un color verd molt característic fàcilment diferenciable. Els espermatozoides amb l'ADN alterat no sempre agafen una tonalitat clarament vermella, sinó que es poden observar matisos que van del taronja al groc. Alguns espermatozoides poden presentar ambdós colors, verd i vermell, distribuïts irregularment dins el cap; en aquest cas també es compten com a vermells, perquè les traces de desnaturalització es consideren anormals. Finalment, en alguns espermatozoides verds hom pot observar una goteta vermella, situada en la peça de connexió, que es correspon amb abundant ARN inclòs en la gota citoplasmàtica (Ischimura, 1975; Tejada i col., 1984).

En el cas que tots o la majoria d'espermatozoides observats en la mostra seminal siguin morts es parla de necrozoospermia. L'ejaculat de mascles reproductors porcins sans conté una mitjana d'un 85% d'espermatozoides vius. En humans, mentre que Ludwig i Frick (1990) estableixen el percentatge d'espermatozoides vius entre el 65 i el 85%, l'OMS (1989) estableix el límit percentual inferior en un 50% d'espermatozoides vius.

4.5. L'Estabilitat de les Membranes Espermàtiques.

L'estabilitat de la membrana de l'espermatozoide humà es mesura segons la tolerància d'aquesta a medis hipoosmòtics (test HOS) (Jeyendran i col., 1984 i 1992). Chan i col. (1991) han descrit un mètode que combina el test HOS amb una tinció supravital en solució hipoosmòtica (VHOS). El test HOS dóna informació sobre l'estabilitat (integritat funcional) de la membrana de la cua de l'espermatozoide i el test VHOS és més específic per a l'estabilitat de les membranes del cap espermàtic. Malgrat que proporciona informació sobre l'estat de les membranes de l'espermatozoide, l'ús d'aquestes tècniques en la pràctica clínica rutinària en humans és limitada. Els estudis sobre la seva relació amb la fertilitat donen resultats encara discutibles (Keel, 1990; Weiske i Maleika, 1990; Van den Saffele i col., 1992).

Per contra, la determinació de la resistència osmòtica de les membranes acrosòmiques de l'espermatozoide és una prova important en la contrastació del semen porcí. Actualment, el test de resistència osmòtica (ORT) descrit per Schilling i col. (1986) és molt utilitzat. Aquesta tècnica permet a les granges o centres d'IA porcins la classificació dels mascles reproductors segons els resultats de fertilitat i prolificitat que poden assolir (Sánchez, 1991). La metodologia d'aquest test consisteix a afegir una mostra de semen a dues solucions de citrat sòdic ajustades a diferents pressions osmòtiques, una d'isotònica (300

mOsm) i una altra d'hipotònica (150 mOsm). Després d'incubar a 39°C s'observa al microscopi de contrast de fases a 1000X, per determinar el percentatge d'espermatozoides amb acrosoma normal (AN) en cadascun dels dos medis. El valor de la resistència osmòtica es calcula mitjançant la fórmula: $ORT = 1/2 ((\%AN \text{ en medi isotònic durant 15 min}) + (\%AN \text{ en medi hipotònic durant 15 o 120 min}))$. La determinació del valor de la resistència osmòtica de les membranes acrosòmiques dels espermatozoides en mostres de semen porcí permet un control quantitatiu de la qualitat espermàtica. Els valors normals de l'índex ORT en l'ejaculat de porcí estan entre 55 i 67 (segons que el període d'incubació en medi hipotònic sigui de 15 o de 120 min, respectivament); els valors d'ORT per sota de 50 són característics de semen de poca qualitat i, com més baix és l'índex ORT, més immadur és l'ejaculat (Schilling i Vengust, 1987).

4.6. L'Aglutinació Espermàtica.

L'aglutinació espermàtica significa l'adhesió dels espermatozoides mòbils entre si, ja sigui, cap amb cap (H-H), cua amb cua (T-T) o cap amb cua (H-T). L'aglutinació dels espermatozoides repercuteix en la vitalitat, la capacitat de conservació del semen i la capacitat fecundant. L'origen de l'aglutinació espermàtica pot ser bioquímic (per excés o carència de determinats compostos que provoquen precipitacions proteiques) o immunològic (a causa d'un procés d'autoimmunitat, és a dir, de la producció d'anticossos contra els propis espermatozoides). Els espermatozoides tenen components antigènics en les diferents regions de la seva estructura i el plasma seminal també pot tenir antigens espermàtics aïllats. Gràcies a la barrera hemotesticular, les parts involucrades en la formació i emmagatzemament dels espermatozoides estan totalment aïllades del sistema immunitari general de l'organisme. Quan hi ha un trencament o alteració d'aquesta barrera (per qualsevol traumatisme o infecció), es produeix el contacte dels espermatozoides amb el sistema immune i es creen anticossos específics en el sèrum sanguini (autoimmunitat general) o en el plasma seminal (autoimmunitat local). Això dona lloc a l'aglutinació dels espermatozoides per un mecanisme d'antigen-anticòs. L'aglutinació espontània entre espermatozoides és un fenomen força freqüent en l'esperma de porcí, ja que molts ejaculats en presenten en grau més o menys intens. No existeix cap mètode objectiu que permeti quantificar el grau d'aglutinació de l'esperma i/o determinar el tipus d'aglutinació (H-H, T-T i H-T). L'única apreciació existent és una valoració subjectiva de si hi ha poca aglutinació ($\leq 1/3$ del total d'espermatozoides), regular (d' $1/3$ a $2/3$), molta ($> 2/3$) o gens (Álvarez, 1989). L'adherència d'espermatozoides

immòbils o mòbils amb filaments de moc, amb cèl·lules que no són espermatozoides o amb detritus no es considera aglutinació i, per tant, no s'ha de comptabilitzar com a tal (OMS, 1989).

En humans, hi ha força indicis que els anticossos antiespermatozoides poden ser un factor causant d'infertilitat. En una proporció considerable (10% aprox.) de les parelles amb problemes d'infertilitat, l'home presenta anticossos específics contra els seus propis espermatozoides que donen lloc a l'aglutinació o immobilització dels espermatozoides (Hendry i col., 1977; Rogers-Neame i col., 1986; Clarke, 1990). Per tant, quan en una mostra d'esperma humà la presència d'aglutinació espontània afecta més del 10% dels espermatozoides, es recomana fer alguna prova específica per detectar anticossos antiespermatozoides (sobretot si els altres paràmetres espermàtics són normals). En els darrers anys s'han desenvolupat diverses tècniques especialitzades, que es poden utilitzar com a "mètodes directes" per detectar anticossos units a la superfície de l'espermatozoide i/o com a "mètodes indirectes" per detectar la presència d'anticossos antiespermatozoides lliures en el sèrum o en el plasma seminal (Andolz i col., 1990; Clarke, 1990; Korte i Menge, 1990; Ludwig i Frick, 1990; Lähteenmäki, 1993). Segons Clarke i col. (1985) i Bronson (1988), els anticossos antiespermatozoides només semblen ser rellevants per a la fertilitat si estan units a la superfície de l'espermatozoide. Dues de les tècniques que s'utilitzen de forma més generalitzada, perquè són considerades molt efectives i simples per a la pràctica rutinària, són la prova de les antiglobulines mixtes (MAR, *mixed antiglobulin reaction test*) (Jager i col., 1978; Ludwig i Frick, 1990) i la prova de les immunobeads (IBT, *immunobead test*) (Clarke i col., 1982; Clarke, 1990).

4.7. La Morfologia Espermàtica.

En general, els espermatozoides tenen un elevat grau de polimorfisme. L'avaluació de les característiques morfològiques i, sobretot de les anomalies dels espermatozoides representa una part molt important de l'anàlisi seminal. Per a la majoria d'investigadors, la morfologia espermàtica és un bon indicador de la fertilitat del mascle, tot i que també n'hi ha d'altres que no consideren discriminant aquesta característica. Tanmateix, cal remarcar que els estudis que descriuen correlacions de la morfologia espermàtica amb la fertilitat (ex.: Kruger i col., 1986, 1988; Jouannet i col., 1988; Oehninger i col., 1988, 1990) utilitzen classificacions morfològiques acurades (seguint uns criteris estrictes preestablerts), mentre que, per contra, els estudis en què no es troba correlació utilitzen una avaluació morfològica menys rigorosa (Aitken i col., 1982; Freischem i col., 1984;

Zaini i col., 1985). Segons Bostofte i col. (1982), hi ha una correlació significativa entre percentatges elevats d'espermatozoides anormals i taxes d'embaràs baixes, però no hi ha correlació amb avortaments o embarassos patològics.

La morfologia espermàtica s'estima de manera subjectiva i els sistemes per avaluar-la són variats. Normalment, l'avaluació de la morfologia comprèn la diferenciació qualitativa i la quantitativa (més o menys detallada) de les formes espermàtiques normals i de les anormals. La morfologia espermàtica pot ser examinada amb microscòpia òptica, microscòpia electrònica d'escànnig i microscòpia electrònica de transmissió.

4.7.1. Ús de la microscòpia òptica (MO).

Encara que la morfologia espermàtica pot ser avaluada fins a cert punt a partir d'una mostra fresca (no preparada) en una cambra de Makler (Makler, 1980a) i amb microscòpia de contrast de fases o amb microscòpia de contrast interferencial de Nomarski, el mètode que dóna millors resultats per diferenciar les diverses formes espermàtiques és realitzar extensions de mostres seminals en portaobjectes, fixar-les i tenyir-les per ser examinades amb microscòpia de camp clar. El mètode de tinció òptim és aquell que, essent el més senzill i econòmic possible, diferencii bé les anomalies morfològiques dels espermatozoides. Hi ha els mètodes "clàssics", que requereixen més temps, com són el de l'Hematoxilina-Eosina, Giemsa, May-Grünwald-Giemsa, Papanicolaou (modificat per a espermatozoides) i Bryan-Leishman; i, hi ha tècniques de tinció més ràpides i simplificades, que se serveixen de components preparats per usar directament i que estan comercialitzats, com són la del *Testsimplets* (Boehringer, Mannheim, Alemanya), *Hemafix* (Biomed, Munich, Alemanya) o *Diff-Quick* (Química Clínica Aplicada -QCA-, Tarragona, Espanya) (OMS, 1989; Keel, 1990; Ludwig i Frick, 1990; Oehninger i col., 1990; Sarlós i Wekerle, 1990).

El mètode de Papanicolaou va ser desenvolupat específicament per a la identificació de cèl.lules procedents de tumors malignes i és un dels més comunament emprats per al diagnòstic citològic. El mètode convencional de Papanicolaou (Papanicolaou, 1942) per a extensions de mostres del tracte genital femení no dóna bons resultats quan s'aplica a mostres d'esperma i, per això, es va modificar la tècnica de manera que resultés útil en l'anàlisi de la morfologia espermàtica (OMS, 1989; Ludwig i Frick, 1990). La tinció de Papanicolaou, malgrat ser més complicada que les altres tincions clàssiques, permet obtenir una bona diferenciació dels espermatozoides.

El mètode que empra la tinció May-Grünwald-Giemsa dóna una diferenciació excel.lent de les cèl.lules espermatozoides immadures, leucòcits i macròfags, i el nucli queda molt

ben contrastat. L'OMS (1989) recomana la tinció de Bryan-Leishman per identificar les cèl.lules espermatogèniques immadures. Ludwig i Frick (1990) prefereixen la reacció amb peroxidasa (=tinció amb benzidina-cianosina), particularment quan costa distingir els leucòcits de les cèl.lules espermatogèniques immadures.

En la pràctica rutinària es poden emprar portaobjectes pre-tenyits amb una capa de colorant (*Testsimplets*) o mètodes de tinció ràpids alternatius com *Hemafix* o *Diff-Quick* (Calamera i Vilar, 1979; Ludwig i Frick, 1990). Aquests mètodes ràpids i simplificats ofereixen una diferenciació suficientment clara, i l'error màxim en comparació amb la tinció de Papanicolaou és del 4-5% (Schirren i col., 1977; Ludwig i Frick, 1990).

El mètode de tinció ràpid amb *Testsimplets* (Boehringer) consisteix simplement a col·locar una gota de la mostra d'esperma sobre l'àrea recoberta de colorant del portaobjectes pre-tenyit i posar a sobre el cobreobjectes. Els resultats d'aquesta tinció són similars als obtinguts amb tinció pancromàtica. La qualitat d'imatge dels *Testsimplets* millora després de 24h a causa de la llarga exposició al colorant (Schirren i col., 1977), però no es poden obtenir preparacions permanents perquè el color va desapareixent gradualment amb el temps. Encara que els resultats no són tan bons o permanents com amb les tincions clàssiques, els *Testsimplets* són un mètode molt ràpid i força satisfactori per a la pràctica diària de la diferenciació morfològica dels components cel·lulars de l'esperma.

Els mètodes de tinció ràpida que empren *Hemafix* (Biomed) o *Diff-Quick* (QCA) consisteixen en una bateria de tinció formada per una solució fixadora i dues solucions colorants, una àcida i l'altra bàsica. Aquests mètodes constitueixen un sistema de tinció diferencial dels elements espermàtics, que uneix la policromia i la qualitat dels mètodes clàssics amb una gran rapidesa d'execució (de 30 a 40 segons).

Una vegada completada la tinció, les preparacions poden ser muntades i observades al microscopi òptic de camp clar a 1000X. És convenient examinar com a mínim dues preparacions per cada mostra d'esperma (i 3 o 4 mostres diferents) i comptar 100 espermatozoides en cada preparació classificant-los, normalment, en tres categories principals segons siguin formes madures (normals), immadures o aberrants (anormals). Finalment, el nombre total d'espermatozoides de les diferents categories s'expressa en percentatges.

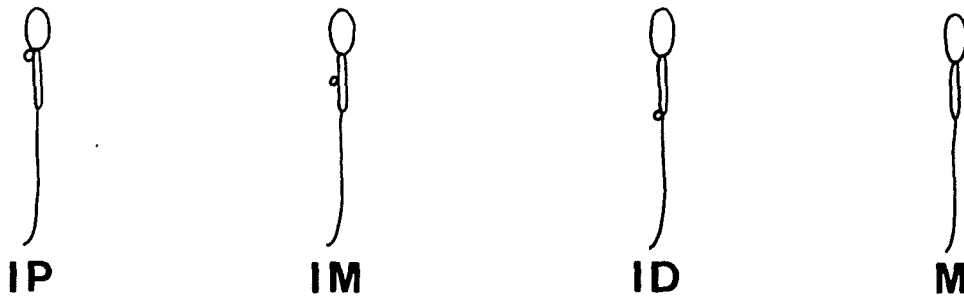
Els espermatozoides immadurs poden presentar la gota citoplasmàtica en posició proximal (al nivell de la peça de connexió), medial (al llarg de la peça intermèdia) o distal (al nivell de l'anell de Jensen) (Esquema 5). Els espermatozoides aberrants poden presentar anomalies del cap (Esquema 6) o de la cua (Esquema 7) i, a més, un mateix gàmeta pot presentar més d'una morfoanomia.

Les morfoanomalies espermàtiques que apareixen en l'ejaculat de porcí poden ser, en general, les mateixes que es troben en altres espècies animals i en humà. En porcí, les anomalies que s'observen amb més freqüència són espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal o distal i espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen (Larsson i col., 1980; Sánchez, 1991). També poden presentar-se altres tipus de malformacions, si bé en percentatges generalment molt menors, com per exemple: espermatozoides amb el cap separat de la cua (caps isolats), amb el cap petit (microcefàlics), amb el cap gegant (macrocefàlics), amb dos caps (bicefàlics), amb formes del cap atípiques (allargades, arrodonides, piriformes -o *tapered*-, triangulars o afilades, doblegades,...), amb la cua doblegada per la peça de connexió, amb dues cues (fusionades o no), amb la cua enrotllada, amb la cua curta (per manca d'alguna peça), etc... (Esquemes 6 i 7). Algunes alteracions morfològiques de l'esperma ejaculada també poden presentar-se durant el trànsit i la maduració per l'epididim.

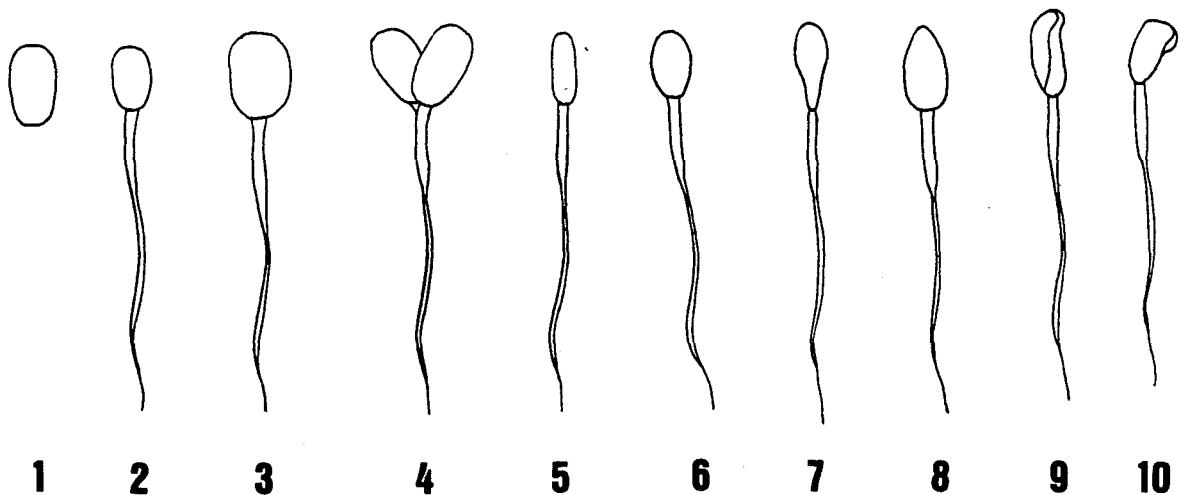
Després de la motilitat i concentració espermàtiques, la morfologia és el tercer criteri essencial que dóna suport a la valoració de la capacitat fecundant realitzada a partir de l'anàlisi d'un ejaculat.

En humà, si les formes anormals sobrepassen el 50% dels espermatozoides examinats, es parla de teratozoospèrnia (OMS, 1989; Ludwig i Frick, 1990), si bé en els tractaments per a IA i FIV es diagnostica teratozoospèrnia quan hi ha menys del 14% de formes normals (Kruger i col., 1986, 1988; Enginsu i col., 1991; Kobayashi i col., 1991). En un ejaculat normal de porcí, el màxim percentatge admès de morfoanomalies espermàtiques és d'un 20-25%, i es considera com a xifra mitjana normal un 8-10% si s'inclouen els espermatozoides immadurs dins les morfoanomalies (Martín, 1982; Rasbech, 1984; Garner i Hafez, 1989); si els espermatozoides immadurs no es compten dins les formes aberrants, aleshores el percentatge mig normal d'espermatozoides aberrants que es troben en l'ejaculat d'un mascle porcí se està entre l'1 i el 2% (Bonet i Castellanos, 1989; Bonet, 1990). En toros, un ejaculat de bona qualitat ha de tenir d'un 80% a un 95% (Rasbech, 1984) o d'un 65% a un 95% d'espermatozoides morfològicament normals (Garner i Hafez, 1989). Segons l'acurat estudi de les morfoanomalies dels espermatozoides en bovins realitzat per Barth i Oko (1989), per considerar un semental apte per a la monta natural o per a IA, almenys un 75% dels espermatozoides han de ser normals. En bous, un ejaculat normal sol tenir entre un 80% i un 95% d'espermatozoides normals (Rasbech, 1984; Garner i Hafez, 1989); en bocs el valor mitjà considerat normal és d'un 70% (Garner, 1991); en cavalls aquest valor varia entre un 70% i un 90% (Rasbech, 1984; Bonadonna, 1989; Garner, 1991); en cobais és aproximadament d'un 95% (Bonadonna, 1989) i en galls es mou entre un 85% i un 90% (Garner i Hafez, 1989).

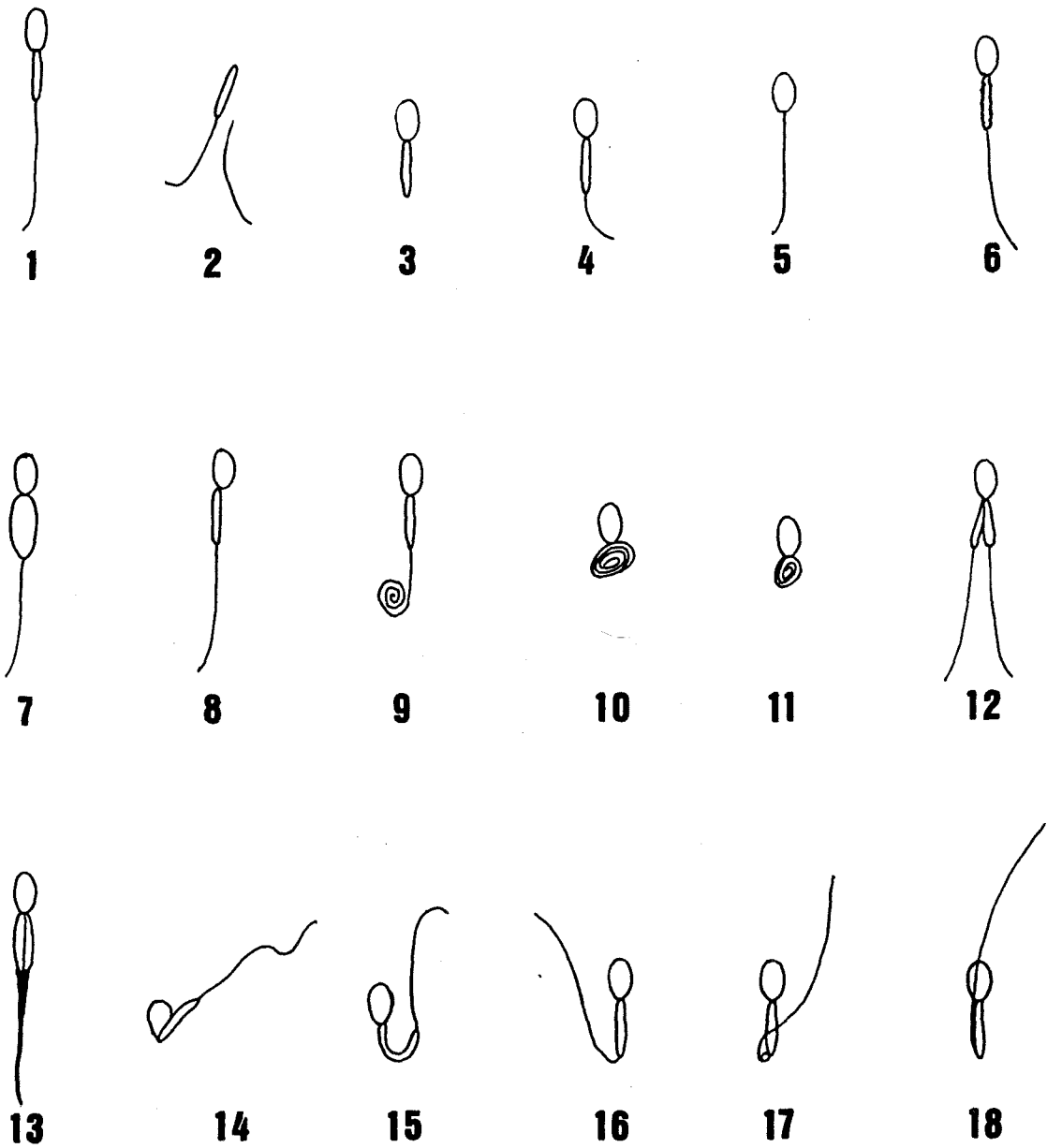
En un ejaculat amb una elevada freqüència de morfoanomalies sovint es troba simultàniament oligo- i astenozoospermia (Singer i col., 1980), fet que es descriu amb el nom de síndrome OAT (oligoastenoteratozoospermia).



Esquema 5. Esquema que mostra tres espermatozoides immadurs, amb gota citoplasmàtica proximal (**IP**), medial (**IM**) i distal (**ID**), i un espermatozoide madur (**M**).



Esquema 6. Esquema que mostra les principals anomalies que poden afectar el cap dels espermatozoides. 1, cap isolat (separat de la cua); 2, microcefàlic; 3, macrocefàlic; 4, bicefàlic; 5, cap allargat; 6, cap arrodonit; 7, cap piriforme; 8, cap triangular; 9, cap doblegat longitudinalment; 10, cap doblegat transversalment.



Esquema 7. Esquema que mostra les principals anomalies que poden afectar la cua dels espermatozoides. **1**, espermatozoide madur amb cua normal; **2**, cues aïllades; **3**, cua curta per manca de les peces principal i terminal; **4**, cua curta per manca de part de la peça principal; **5**, cua curta per manca de la peça intermèdia; **6**, cua amb peça intermèdia amb constriccions; **7**, cua amb la peça intermèdia engruixida; **8**, cua amb implantació al cap abaxial; **9**, cua enrotllada a l'extrem; **10**, cua completament enrotllada; **11**, cua curta completament enrotllada; **12**, dues cues no fusionades; **13**, dues cues fusionades; **14**, cua doblegada per la peça de connexió; **15**, cua flexionada per la peça intermèdia; **16**, cua flexionada per l'anell de Jensen; **17**, cua doblegada per l'anell de Jensen amb gota citoplasmàtica residual; **18**, cua doblegada per l'anell de Jensen i fusionada amb la peça intermèdia i amb el cap de l'espermatozoide.

4.7.2. Ús de la microscòpia electrònica d'escànnning (MES).

En els darrers anys hi ha hagut un augment remarcable de l'ús del microscopi electrònic com a eina de recerca en Biologia i Medicina. Definitivament, la microscòpia electrònica aporta noves dades sobre l'estructura i la ultraestructura de l'espermatozoide i, sobretot, tal i com demostren nombrosos treballs publicats durant aquests darrers anys, ha contribuït a ampliar enormement el nostre coneixement de les característiques ultraestructurals i d'organització interna dels orgànuls dels espermatozoides en condicions patològiques i en casos concrets d'infertilitat del mascle, especialment, en humans i en animals domèstics (Zamboni, 1991).

El major poder d'amplificació i l'elevada resolució de les imatges tridimensionals obtingudes a partir de la microscòpia electrònica d'escànnning (MES), en comparació amb la MO convencional, permeten la detecció d'estructures gamètiques anormals de forma més acurada. Així, una malformació gamètica concreta detectada per MO pot ser classificada per MES en diferents tipus d'anomalies. Segons Gould (1980) i Breed (1983, 1984), el MES és un instrument molt eficaç per estudiar la morfologia externa de l'espermatozoide i, especialment, per fer la reconstrucció tridimensional d'una estructura a partir de les imatges en dues dimensions de la microscòpia electrònica de transmissió (MET).

La MES fou introduïda en el camp de l'espermatozoologia humana per Fujita i col. (1970) i perfeccionada anys més tard per Lacy i col. (1974) i Dadoune i Fain-Maurel (1977). Les primeres observacions de l'esperma de porcí al microscopi electrònic d'escànnning (MES) (Bonet, 1987 i 1990) han aportat noves dades sobre l'estructura de l'espermatozoide madur i sobre les principals formes aberrants. Una variació molt interessant de la MES convencional és la MES de baix voltatge i elevada resolució (*HR-LVSEM*) que, emprant protocols de preparació de les mostres adequats per preservar el més intacte possible els espermatozoides, és molt útil per visualitzar la superfície real d'àrees extenses de la membrana plasmàtica dels espermatozoides i elimina l'aparició d'artefactes (Erlandsen i col., 1989; Stoffel i col., 1993).

4.7.3. Ús de la microscòpia electrònica de transmissió (MET).

La ultraestructura de l'espermatozoide dels mamífers, així com la seva biologia general, han estat extensament tractades en nombrosos treballs (ex.: Afzelius, 1974; Duckett i Racey, 1975; Baccetti i Afzelius, 1976; Fawcett i Bedford, 1979; André, 1983; Esponda, 1985; Guraya, 1987; Zamboni, 1991). Les escasses dades de què es disposa

referents a la ultraestructura de l'espermatozoide de porcí provenen dels treballs comparatius entre espermatozoides de mamífers fets per Nicander i Bane (1962, 1966), Fawcett (1970) i Jones (1971a, b, 1973). Morré i col. (1974) van descriure un procediment per a MET emprant una tècnica de contrastació específica (àcid fosfotúngstic-àcid cròmic) per marcar selectivament i distingir les membranes plasmàtica i acrosòmica dels espermatozoides de l'ejaculat de porcí. Aquesta tècnica de contrastació també ha estat aplicada a cèl.lules germinals de porcí i permet la identificació *in situ* de components cel.lulars implicats en la formació i diferenciació de les membranes plasmàtica i acrosòmica durant l'espermatogènesi (Clegg i col., 1975). També s'han dut a terme estudis comparatius de la ultraestructura dels espermatozoides de porcí, abans, durant i després del procés habitual de congelació i descongelació de semen, mitjançant MET (Courstens i Paquignon, 1985) o MET assistida d'anàlisi d'imatges i microespectrofotometria de raigs X (Courstens i col., 1989).

En bovins, Morstin i Courot (1974), trobaren que la incidència d'alteracions ultraestructurals dels espermatozoides, no perceptibles amb MO convencional, era més elevada en animals de fertilitat mitjana o baixa que en toros amb bona fertilitat. Recentment, Barth i Oko (1989) han elaborat un manual que tracta les principals formes gamètiques immadures i aberrants presents en l'ejaculat de toros de diverses races, alhora que estableix quin és l'origen i la repercussió d'aquestes en la fertilitat dels mascles sementals. Les dades que en aquest sentit s'han publicat en porcí són molt escasses, tot i que en alguns treballs s'ha relacionat una morfologia espermàtica anormal amb la subfertilitat o l'esterilitat de mascles reproductors porcins (ex.: Holst, 1949; Bieleke i Letz, 1975; Martín, 1982; Bonet i Castellanos, 1989).

La complexitat de les tècniques de la ME, tant per a MES com per a MET, fa que la seva utilització sigui, fonamentalment, restringida als projectes d'investigació. En aquest sentit, s'ha descrit una manera d'aproximar la tècnica de MES a l'estudi rutinari de l'esperma de porcí (mètode de simple dessecació a l'aire), que consisteix a simplificar i accelerar el procés convencional de preparació de les mostres eliminant els passos de deshidratació i dessecació per punt crític (Bonet i Briz, 1991).

En conclusió, totes les tècniques descrites en aquesta introducció tenen avantatges i desavantatges, perquè, o bé són molt precises però molt complexes, i requereixen molt temps i són costoses, o bé són més simples, ràpides i barates, però menys precises. Segons alguns autors (OMS, 1989; Hafez, 1989; Ludwig i Frick, 1990; Garner, 1991), les tècniques objectives (més o menys sofisticades) no ofereixen grans avantatges per a la rutina diària de les anàlisis seminals enfront dels simples mètodes subjectius, que, encara que

imprecisos, són tolerables, sobretot en el cas d'animals de granja, on no solen disposar d'equips costosos per a l'ús general (Amann, 1988).

Finalment, cal remarcar que, a excepció dels casos extrems d'esterilitat, de les múltiples proves que es poden realitzar en l'anàlisi seminal no n'hi ha cap que per si sola tingui valor absolut per predir amb precisió la fertilitat d'un ejaculat. Només mitjançant l'adequada combinació i interpretació dels resultats de diverses proves es poden obtenir conclusions vàlides (Bartoov i col., 1993).

5. CARACTERÍSTIQUES GENERALS DE L'EPIDÍDIM.

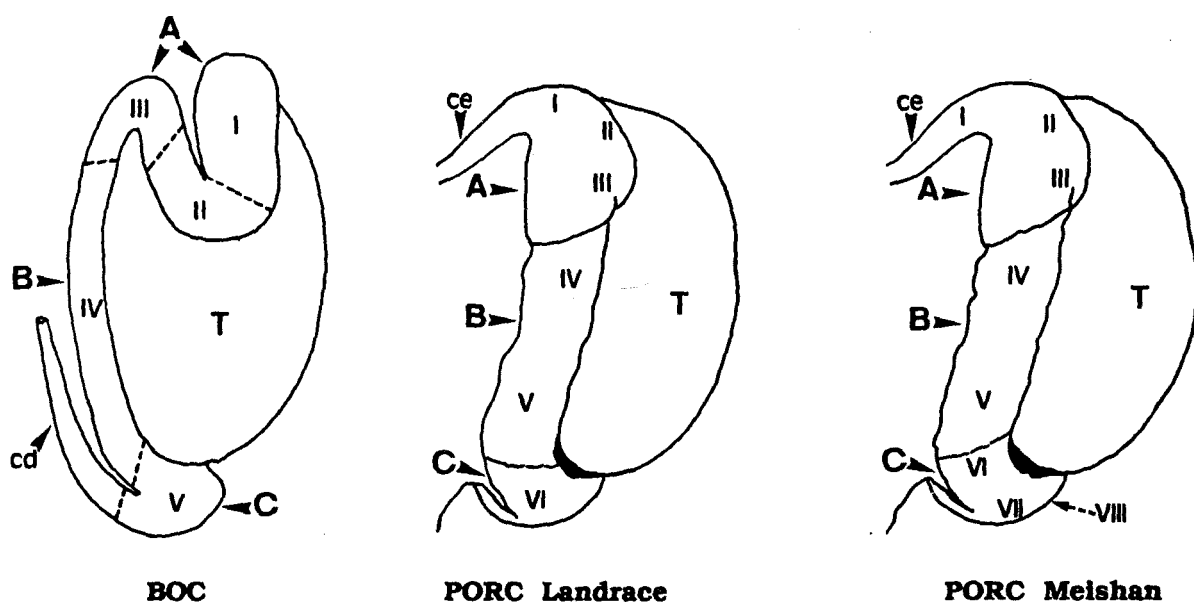
5.1. Estructura de l'epidídim.

L'epidídim dels mamífers és l'òrgan que conté el conducte epididimari. Anatòmicament, hom pot distingir tres regions epididimàries: la regió cefàlica, la regió corporal i la regió caudal. El conducte epididimari, de recorregut molt tortuós, es disposa al llarg de les tres regions. En la regió cefàlica (cap o caput), de forma lleugerament aplanada i situada en el polus proximal del testicle, el conducte epididimari s'uneix amb els conductes eferents procedents de la rete testis. En la regió caudal (cua o cauda), molt prominent i situada al polus distal del testicle, s'emmagatzemen els espermatozoides i el conducte epididimari continua amb el conducte deferent. La regió corporal (cos, corpus o isthmus), més estreta i situada a un costat del testicle, uneix la regió cefàlica amb la regió caudal (Vendrely, 1981; Goyal i Williams, 1991) (Esquema 8).

McKenzie i col. (1938) van fer una primera descripció de l'estructura de l'epidídim de porcí. L'epidídim de porcí és un llarg conducte amb nombroses circumvolucions, molt replegat sobre si mateix, que està envoltat per una túnica conjuntiva (extensió de la túnica albugínea del testicle) i ple d'un teixit intersticial poc diferenciat (Hamilton, 1975). La longitud de l'epidídim de porcí presenta notables diferències segons els treballs consultats. Així doncs, Ghetie (1939) va determinar un valor de 62-64 m, Bishop (1961) de 40 m, Ashdown (1989) de 18 m i Bonadonna (1989) de 55-65 m. Donada la fragilitat del conducte epididimari, mesurar de manera fiable la seva longitud no és gens fàcil; també dependrà d'on es consideri que comença i acaba en relació als conductes eferents i deferent; i, a més, poden existir diferències racials, d'edat, etc. El mateix succeeix amb altres espècies, a nivell orientatiu esmentarem només algunes dades. Per exemple, el

càlcul de la longitud de l'epidídim humà dona uns valors mitjans de 4-6 m (Alnot, 1990), en bous d'uns 50 m segons Ashdown (1989) i d'uns 80 m segons Setchell (1991), en toros d'uns 40 m i en bocs d'uns 75 m (Ashdown, 1989).

Des del punt de vista histològic i funcional del conducte epididimari es poden distingir, bàsicament, tres segments (inicial, medial i terminal), els quals no coincideixen necessàriament amb les regions anatòmiques macroscòpiques (Nicander, 1957; Glover i Nicander, 1971).



Esquema 8. Esquema que mostra els epididims de boc (Goyal i Williams, 1991) i de porcí: Landrace i Meishan (Wrobel i Fallenbacher, 1974; Harayama i Kato, 1992). **A**, caput; **B**, corpus; **C**, cauda; **cd**, conducte deferent; **ce**, conductes eferents; **T**, testicle. Els números romans indiquen els diferents segments en què es divideix l'epidídim.

La histofisiologia de l'epiteli epididimari ha estat estudiada en moltes espècies incloent rates (Reid i Cleland, 1957; Hamilton, 1975; Robaire i Hermo, 1988), ratolins (Soranzo i col., 1982; Abe i col., 1983), hámsters (Nicander i Glover, 1973; Flickinger i col., 1978), cobais (Hoffer i Greenberg, 1978; Greenberg i Forssmann, 1983), conills (Jones i col., 1979; Nicander i Ploen, 1979), talps (Suzuki i Racey, 1976), diferents espècies de marsupials (Bedford i Rifkin, 1979; Jones i col., 1984; Cummins i col., 1986; Taggart i Temple-Smith, 1989), gossos (Connell i Donjacour, 1985), gats (Arrighi i col., 1986; Viotto i col., 1988), búfals (Goyal i Dhingra, 1975), bous (Nicander, 1957 i 1979), toros (Nicander, 1957; Goyal, 1985); bocs (Goyal i Williams, 1991; Sánchez i col., 1991), camells (Singh i Bharadway,

1980), cavalls (Nicander, 1957; López i col., 1989; Arrighi i col., 1993), ases (Arrighi i Romanello, 1984), muls (Arrighi i col., 1991), micos (Ramos i Dym, 1977; Moore i Pryor, 1981) i humans (Holstein, 1969). En l'epiteli epididimari de les diverses espècies s'han descrit diferents tipus de cèl.lules, a les quals s'atribueixen diferents funcions, si bé les interrelacions entre elles són encara insuficientment conegudes (Arrighi i col., 1993). El nombre de segments en què es divideix l'epidídim, segons les característiques morfofuncionals de l'epiteli del conducte epididimari, és diferent depenent de les espècies. Per exemple, en bocs l'epidídim es divideix en cinc segments: 3 subdivisions en el caput, 1 en el corpus i 1 en el cauda (Goyal i Williams, 1991; Sánchez i col., 1991) (Esquema 8). Wrobel i Fallenbacher (1974), a partir d'observacions histoquímiques i histològiques al microscopi òptic en porcs adults de raça Landrace, divideixen el conducte epididimari de porcí en sis segments i es localitzen els segments 1, 2 i 3 en el caput, els segments 4 i 5 en el corpus i el segment 6 en el cauda de l'epidídim (Esquema 8). En porcs xinesos Meishan (notables per la seva precoç maduresa sexual), Harayama i Kato (1992) consideren que el conducte epididimari està dividit en vuit segments, 3 en el caput, 2 en el corpus i 3 en el cauda de l'epidídim (Esquema 8).

5.2. L'epiteli i el fluid luminal del conducte epididimari.

L'epiteli epididimari és pseudo-estratificat i està format per diferents tipus cel.lulars, les característiques i abundància relativa dels quals varia segons la zona epididimària considerada. Malgrat les variacions en l'estructura histològica del conducte epididimari al llarg de l'epidídim, sempre hi són presents un epiteli amb cèl.lules epitelials principals i basals i una beina músculo-conjuntiva (Cameron, 1990). Els canvis més apreciables es troben en l'alçada epitelial, en la morfologia i tipus de les cèl.lules epitelials, en la longitud i nombre d'esterocilis i en el gruix de la beina músculo-conjuntiva.

La composició del fluid epididimari també varia segons la regió i reflecteix l'activitat absorbiva de l'epidídim així com l'elaboració i secreció de substàncies específiques. Entre els components secretats per l'epiteli epididimari que s'han identificat en diverses espècies de mamífers s'inclouen els següents: esteroides (dihidrotestosterona, testosterona i altres); ions (Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{2+} , Ca^{2+} , PO_4^{3-}); glicerilfosforilcolina; àcid siàlic; carnitina; inositol; proteïnes (glicoproteïnes, sialomucoproteïnes, inhibidors de l'acrosina, etc.) i enzims (fosfatasa alcalina, fosfatasa àcida, glucosidasa, etc.) (Cooper, 1986; Robaire i Hermo, 1988; Soler i col., 1991). El fluid secretat per l'epiteli epididimari té un paper molt important en la maduració de l'esperma de porcí (Hunter i col. 1978). Diversos autors han

relacionat l'adquisició de la motilitat i la capacitat fecundant de l'espermatozoide de porcí amb les secrecions per part de l'epiteli epididimari d'esteroides (Booth, 1983), ions (Crabo, 1967; Zimmerman i col., 1979), carnitina (Orgebin-Crist i Olson, 1984), inositol (Nikolopoulou i col., 1985) i proteïnes (Dóstal i Veselsky, 1972; Dacheux i col., 1983; Russell i col. 1984). L'activitat de les diferents cèl.lules que revesteixen l'epidídim i, per tant, la seva influència en el procés de maduració espermàtica, es mantenen gràcies als andrògens testiculars (Orgebin-Crist i col., 1975; Robaire i Hermo, 1988; Garner i Hafez, 1989). L'epiteli epididimari no és únicament un epitel·li de revestiment, sinó que presenta intensos fenòmens d'absorció i secreció (Bedford, 1975; Orgebin-Crist i col., 1975 i 1981; Cooper, 1986), que indiquen una diferent activitat zonal de l'epidídim. Els mecanismes d'aquests processos d'absorció-secreció són escassament coneguts (Hoffer i col., 1973; Nicander i Malmquist, 1977; Flickinger, 1983 i 1985; Soler i col., 1991).

5.3. El transport espermàtic a través de l'epidídim.

El transport dels espermatozoides a través de l'epidídim depèn de la peristalsi tubular que es va fent menys intensa i freqüent en les zones més distals del conducte (Hib i col., 1979; Viotto i Orsi, 1989). Aquests moviments peristàltics es creu que són deguts a la contractibilitat de les cèl.lules musculars llises que formen la beina músculo-conjuntiva que envolta el conducte epididimari. En rates, sembla que aquestes contraccions estan sota el control de les prostaglandines (Cosentino i col., 1984). El transport també es veu afavorit pels canvis de pressió osmòtica en l'interior del conducte epididimari (Orgebin-Crist, 1968; Turner, 1984).

Mitjançant mètodes autoradiogràfics, Singh (1962) i Swierstra (1968) van estudiar el temps que l'espermatozoide de porcí necessita per recórrer les tres regions epididimàries, i van establir tres dies per al caput, dos dies per al corpus i de quatre a nou dies per al cauda. El temps de trànsit dels espermatozoides a través de l'epidídim varia d'una espècie a una altra (Taula I) i pot veure's reduït del 10% al 20% en augmentar la freqüència d'ejaculació dels animals (Garner i Hafez, 1989; Setchell, 1991). Malgrat que la longitud del conducte epididimari varia entre diferents espècies, la mitjana del temps de trànsit és força similar (~10-12 dies). Atès que els espermatozoides maduren fonamentalment en el caput i corpus de l'epidídim, el procés de maduració requereix de 3 a 5 dies en la majoria de les espècies, excepte en el cas de l'home (Amann i col., 1976; Amann, 1981; Orgebin-Crist i Olson, 1984) (Taula I).

TAULA I. Temps de trànsit dels espermatozoides a través de l'epidídim en diversos mamífers.				
Espècies	Temps de trànsit epididimari (dies)			Referències
	Epidídim sencer	Caput- Corpus	Cauda	
Rata	8,4	3,4	5,0	Robb i col. (1978)
Ratolí	8,7 - 9,7 5,0 - 5,8	3,1 - 3,9	5,6 - 5,8	Meistrich i col. (1975) Dadoune i Alfonsi (1984)
Hàmster	15,6 15,0	2,0 5,0	13,6 10,0	Amann i col. (1976) Hikim i Hoffer (1988)
Conill	9,0 - 10,0 12,7 8,0 - 10,0	4,0 3,0	5,0 - 6,0 9,7	Orgebin-Crist (1965) Amann i col. (1976) Swierstra i Foote (1965)
Be	11,0 - 13,0	4,0	7,0 - 9,0	Ortavant (1969) i Amir i Ortavant (1968)
Toro	8,0 - 11,0 9,0 - 12,0	4,0	5,0 - 7,0	Orgebin-Crist (1961) Koefoed-Johnsen (1961)
Porc	9,0 - 14,0 10,2	5,0	4,0 - 9,0	Singh (1962) Swierstra (1968)
Cavall	8,0 - 11,0 13,9	3,4 4,1	6,0 9,8	Gebauer i col. (1974) Amann i col. (1976)
Mico	10,5	4,9	5,6	Amann i col. (1976)
Home	5,5 5,5	1,8 1,1	3,7 4,4	Amann (1981) Orgebin-Crist i Olson (1984)

El medi canviant, creat en la cavitat del conducte epididimari per l'epiteli com a conseqüència de la seva activitat absortiva-secretora, faculta l'epidídim de dues funcions bàsiques actualment ben establertes i objecte de molts estudis (Bedford, 1975; Orgebin-Crist i col., 1975 i 1981; Cooper, 1986 i 1990; Alnot, 1990; Burgos i col., 1992) : (1) *la maduració espermàtica*, que té lloc fonamentalment en el caput i el corpus del conducte i que consisteix en l'adquisició de la motilitat progressiva i de la capacitat fecundant dels espermatozoides; i, (2) *l'emmagatzemament dels espermatozoides* madurs en el cauda epididimari, mantenint la seva supervivència i vitalitat en estat quiescent (durant períodes de temps limitats) fins el moment de l'ejaculació. En conclusió, l'epidídim actua de dues maneres per preparar els espermatozoides per a la fecundació; en primer lloc, promovent la capacitat dels espermatozoides d'interaccionar amb èxit amb els oòcits i, en segon lloc, prevenint l'expressió prematura d'aquesta aptitud en el propi tracte genital masculí.

Capítol 1:

MORFOLOGIA ESPERMÀTICA

DE L'EJACULAT

MATERIAL I MÈTODES.

1. MATERIAL.

1.1. Característiques dels exemplars.

Per a l'estudi de la morfologia espermàtica al microscopi òptic i als microscopis electrònics d'escànnig i de transmissió s'han utilitzat mostres de la fracció espermàtica de l'ejaculat de mascles reproductors porcíns Pietrain i Landrace sans, sexualment madurs i de 12 mesos d'edat. Aquests mascles han estat sotmesos des dels 10 mesos d'edat a períodes d'extraccions de semen de dos cops per setmana i, abans d'obtenir-ne les mostres per examinar, s'han mantingut en repòs sexual durant 48 hores. Els mascles han estat confinats en naus climatitzades a 18-25° C i alimentats amb dietes equilibrades i controlades en què el pinso i l'aigua són subministrats per mecanismes automatitzats.

1.2. Obtenció i conservació de les mostres.

De l'ejaculat obtingut pel mètode manual amb guant de goma (o mètode de la mà enguantada) a partir de mascles muntats sobre un maniquí, se n'ha recollit la fracció espermàtica (aprox. 70 cc) i s'han desestimat les fraccions pre- i postespermàtiques (aprox. 10 cc i 150 cc, respectivament).

La fracció espermàtica dels ejaculats ha estat filtrada a través d'una gasa per eliminar les masses gelatinoses procedents de les glàndules de Cowper. Ha estat emmagatzemada en un recipient termoïllant que s'ha traslladat, en 30 minuts aproximadament, des de les instal·lacions d'inseminació artificial de les explotacions porcínes als laboratoris de la universitat.

Al laboratori, la fracció espermàtica ha estat diluïda en la proporció 1:10 amb el diluent MR-A (distribuït per Dibapa S.A., Tel. 93.7524097) (Martín, 1982). La mostra ha estat emmagatzemada en flascons d'uns 80 cc en una nevera Zanussi model Z-175 a 15° C.

2. MÈTODES.

2.1. Processat de les mostres per a Microscòpia Òptica (MO).

Per estudiar la morfologia espermàtica al microscopi òptic s'ha procedit a: **(a)** l'observació en microscòpia de contrast de fases i en microscòpia de contrast interferencial de l'esperma fixada, i **(b)** l'observació en microscòpia de camp clar d'extensions d'esperma fixades i tenyides.

a) Per examinar la morfologia espermàtica als microscopis òptics de contrast de fases i de contrast interferencial de Nomarski s'ha procedit de la forma següent:

1) 10 cc d'esperma diluïts en la proporció 1:10 amb el diluent MR-A s'han fixat amb 1 cc de glutaraldehyd al 25% en tampó fosfat de Sørensen 0,16 M pH 7,2 (Hayat, 1989) durant 60 minuts a 4° C.

2) Una gota de l'esperma fixada s'ha col·locat entre el porta i el cobreobjectes i s'ha observat al microscopi de contrast de fases i al microscopi de contrast interferencial.

b) El procediment seguit per estudiar la morfologia espermàtica al microscopi òptic de camp clar ha estat el següent:

1) Una gota (~5µl) de l'esperma diluïda en la proporció 1:10 amb el diluent MR-A s'estén sobre un portaobjectes i es deixa assecar a l'aire (durant uns 3 minuts aprox.).

2) Les extensions són tenyides seguint el mètode Panòptic Ràpid de QCA, que conté tres reactius A, B i C (distribuït per Francisco Soria Melquizo S.A., Tel. 91.4649450). El reactiu A és una solució metilica de triarilmetà i té propietats fixadores. El reactiu B és una solució vermella tamponada de xantè i actua com un colorant basòfil. El reactiu C és una solució blavosa tamponada de tiazina i té les propietats d'un colorant acidòfil. El mètode consisteix a submergir les preparacions durant deu segons (deu immersions d'un segon) en cadascun dels reactius, deixant-les escórrer entre reactiu i reactiu. Finalment, cal rentar-les amb aigua destil·lada i, deixant assecar completament l'extensió, es munta en bàlsam o en qualsevol altre medi de muntatge sintètic hidròfob com l'Entellan o el DePeX.

Les observacions han estat realitzades en un microscopi òptic Zeiss (Docuval) i per a les microfotografies s'ha utilitzat pel·lícula Ektachrome (160 ASA) per a llum artificial de tungstè.

2.2. Fixació de les mostres per a Microscòpia Electrònica (ME).

A fi d'alliberar la mostra de les secrecions glandulars i epididimàries, 1 cc de la mostra ha estat sotmès durant 10 minuts a un rentat amb 9 cc de tampó fosfat de Sørensen 0,16 M pH 7,2 (Hayat, 1989).

Per centrifugació durant 10 minuts a 1800 rpm, s'obté un sediment que és resuspès novament durant 10 minuts en 10 cc de tampó. Tot seguit es procedeix d'acord amb el protocol següent (Bonet, 1988):

- 1) Obtenció del sediment per centrifugació a 1800 rpm durant 10 minuts.
- 2) Fixació del sediment en 10 cc de líquid de Karnovsky (distribuït per Electron Microscopy Sciences, Fax. 07.01.215.646.8931) (Hayat, 1989) durant 1 hora a 4° C.
- 3) Centrifugar a 1800 rpm durant 10 minuts.
- 4) Rentar i resuspendre el sediment en 10 cc de tampó durant 10 minuts a 4° C.
- 5) Centrifugar a 1800 rpm durant 10 minuts.
- 6) Rentar i resuspendre el sediment en 10 cc de tampó durant 10 minuts a 4° C.
- 7) Centrifugar a 1800 rpm durant 10 minuts.
- 8) Postfixar el sediment amb 0,5 cc de tetraòxid d'osmi a l'1% en aigua bidestil.lada durant 10 minuts a 4° C.
- 9) Centrifugar a 1500 rpm durant 10 minuts.
- 10) Rentar i resuspendre el sediment en 10 cc de tampó durant 10 minuts a 4° C.
- 11) Centrifugar a 1500 rpm durant 10 minuts.
- 12) Rentar i resuspendre el sediment en 10 cc d'aigua bidestil.lada durant 10 minuts a 4° C.

Les mostres, fixades amb glutaraldehid-paraformaldehid (líquid de Karnovsky) i postfixades amb tetraòxid d'osmi estan a punt per ser processades per a la seva observació als microscopis electrònics d'escànnig i de transmissió.

2.2.1. Processat de les mostres fixades per a Microscòpia Electrònica d'Escànnig (MES).**• Deshidratació:**

- 1) Recollir 5 cc de la mostra postfixada i resuspesa, centrifugar seguidament durant 10 minuts a 1500 rpm.
- 2) Procedir a la deshidratació del sediment en sèrie alcohòlica etílica de 30°, 50°, 70°, 90°, 96°, 100° i 100° (10 minuts en 5 cc de cada alcohol de la sèrie).

• Imbibició:

3) Infiltrar progressivament el sediment amb el líquid de transició (acetat d'isoamil) en cinc passos de 10 minuts cadascun: 5 cc d'etanol-acetat d'isoamil (2:1), 5 cc d'etanol-acetat d'isoamil (1:1), 5 cc d'etanol-acetat d'isoamil (1:2), 5 cc d'acetat d'isoamil pur i 5 cc d'acetat d'isoamil pur (entre cada pas cal recuperar el sediment centrifugant a 1500 rpm durant 10 minuts).

• Muntatge:

4) Resuspendre la mostra i dipositar tres gotes sobre un filtre de policarbonat Nuclepore-Costar de 2 µm de diàmetre de porus (distribuït per Cultek S.L., Tel. 91.7290333) muntat sobre la base d'una càpsula de polietilè de 8 mm de diàmetre (distribuït per Ramon Cornet S.A., Tel. 93. 2375562).

• Assecat i metal.lització:

5) Assecar el conjunt mitjançant el mètode de punt crític.

6) Retirar el filtre i muntar-lo en un suport d'alumini o coure i metal.litzar-lo en un *sputtering* o metal.litzador (Polaron-3000) amb una capa d'or d'uns 50 nm de gruix.

• Observació i micrografia: Les mostres, processades d'acord amb aquest protocol, han estat observades en un microscopi electrònic d'escànnning Hitachi S-570 del Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat Autònoma de Barcelona. Per a les micrografies s'ha utilitzat pel.lícula Ilford 120 HP5.

2.2.2. Processat de les mostres fixades per a Microscòpia Electrònica de Transmissió (MET).**• Deshidratació:**

1) Recollir 5 cc de la mostra postfixada i resuspensa i centrifugar durant 10 minuts a 1500 rpm.

2) Procedir a la deshidratació del sediment a 4° C en 5 cc de cada acetona de la sèrie següent: acetona de 50°, acetona de 70°, acetona de 96°, acetona de 100° (glacial) (3 canvis de 10 minuts cadascun).

• Imbibició:

- 3) Resuspendre i transferir la mostra a una càpsula cònica de polietilè tipus Eppendorf (distribuït per Gomensoro S.A., Tel. 93.2108256).
- 4) Imbibir la mostra amb resina Spurr de baixa viscositat (distribuït per Ramon Cornet S.A., Tel. 93.2375562) d'acord amb la sèrie següent: acetona-òxid de propilè (1:1) durant 15 minuts a 4° C (2 canvis); òxid de propilè durant 15 minuts a 4° C (2 canvis); òxid de propilè-Spurr (2:1) durant 30 minuts a 4° C; òxid de propilè-Spurr (1:1) durant 60 minuts a 4° C; Spurr durant 12 hores a 4° C.

• Inclusió:

- 5) Transferir el sediment a un motlle de silicona o mantenir-lo en la mateixa càpsula de polietilè, amb nova resina Spurr. Mantenir a 4° C durant 2 hores.
- 6) Transferir el conjunt (motlle o càpsula, i mostra) a l'estufa a 70° C i mantenir-lo durant 8 a 12 hores.

• Ultramicrotomia:

- 7) Piramidar el bloc i obtenir seccions semifines d'1 mm de gruix contrastades amb blau de metilè i fuxina bàsica (distribuït per Electron Microscopy Sciences, Fax. 07.01.215.646-8931) sobre una placa calefactora a 80° C durant 2 minuts.
 - 8) Obtenir seccions fines de 70 nm de gruix i recollir-les en reixetes de coure de 3 mm de diàmetre (distribuït per Electron Microscopy Sciences, Fax. 07.01.215.646-8931).
- (Les seccions semifines i fines han estat obtingudes amb un ultramicrotòmetre LKB III i amb un ultramicrotòmetre Reichert model Supernova amb ganivetes de vidre).

• Contrastació:

- 9) Contrastar les seccions fines amb acetat d'uranil (solució saturada d'acetat d'uranil en aigua bidestil·lada-acetona, en la proporció 1:1) durant 7 o 8 minuts.
- 10) Rentar amb aigua bidestil·lada i deixar assecar.
- 11) Contrastar amb la solució de Reynolds durant 15 minuts (solució de Reynolds: 1,33 g de nitrat de plom, 1,76 g de citrat sòdic i 30 ml d'aigua destil·lada i bullida; agitar durant 30 minuts i afegir-ni 8 ml d'hidròxid sòdic 1N; enrasar fins a 50 ml amb aigua destil·lada bullida i emmagatzemar la solució a la foscor a 4° C).
- 12) Rentar amb aigua bidestil·lada i deixar assecar.

- **Observació i micrografia:** Les seccions fines han estat observades en un microscopi electrònic de transmissió Hitachi HV 12A del Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat Autònoma de Barcelona. Per a les micrografies s'han utilitzat plaques Kodak 4489.

RESULTATS.

1. L'ESPERMATOZOIDE MADUR.

1.1. Estructura i morfologia externa.

L'espermatozoide madur de *Sus domesticus* és un gàmeta de 45 µm de longitud en què es distingeixen tres parts: el cap, el coll o peça de connexió i la cua. La cua està formada per tres peces: la intermèdia o mitocondrial, la principal i la terminal (Esquemes 1 i 2) (Làmina I: Fig. 1) (Làmina II: Figs. 1 i 2) (Làmina III: Fig. 1).

El cap és oval i pla. Les seves mides són: 7 µm de longitud, 3,7 µm d'amplada màxima i 0,4 µm de gruix. Les dues cares no són iguals; mentre que una és plana, l'altra presenta una protuberància apical en forma de semilluna, d'uns 0,4 µm d'amplada, que s'estén pels marges del cap al llarg de 1,2 µm (Làmina IV: Figs. 1 i 2) (Làmina VI: Fig. 4).

El coll, de 0,7 µm de longitud per 0,5 µm de gruix, té forma cònica amb la base més ampla (1,3 µm) en contacte amb el cap i la més estreta (0,6 µm) en contacte amb la peça intermèdia. En la zona més propera al cap hom pot observar una protuberància anular de 0,15 µm de diàmetre (Làmina VI: Fig. 1).

La cua té forma filamentosa i cilíndrica. La peça intermèdia té una longitud de 9 µm i un diàmetre de 0,7 µm (Làmina V: Fig. 1) (Làmina VI: Fig. 2). La peça principal té una longitud de 26,2 µm i un diàmetre de 0,4 µm (Làmina V: Figs. 1 i 2) i, finalment, la peça terminal té una longitud de 2,2 µm i un diàmetre de 0,2 µm (Làmina VI: Fig. 3).

1.2. Ultraestructura.

1.2.1. El cap.

En el cap de l'espermatozoide distingim les estructures següents: l'acrosoma, la làmina densa postacrosòmica, l'espai subacrosòmic, el material fibrós perinuclear i el nucli (Esquemes 1 i 2) (Làmina XXIII: Fig. 1).

• L'acrosoma.

L'acrosoma és una vesícula que es disposa sobre el nucli en forma de caputxa i abasta el 80% de la longitud nuclear (Làmina XXIII: Fig. 1). Aquesta part del cap que conté l'acrosoma és coneguda com a regió acrosòmica. L'acrosoma conté un material amorf, distribuït homogèniament. S'hi distingeixen tres segments: apical, principal i equatorial (Esquema 2) (Làmina XXIII: Fig. 1). En aquest darrer segment l'electrodensitat del contingut acrosòmic és lleugerament superior a la dels dos primers segments (Làmina XXIII: Fig. 1).

El segment apical de l'acrosoma és la zona més dilatada de la vesícula acrosòmica. Si bé la membrana acrosòmica interna es disposa paral·lela a l'embolcall nuclear, la membrana acrosòmica externa s'allunya de l'eix nuclear (Làmina XXII: Fig. A). Aquesta dilatació vesicular no presenta el mateix desenvolupament en les dues cares del cap. En la cara no plana del cap, el segment apical arriba a uns 0,72 μm de longitud per 270 nm de gruix màxim i, en la cara plana del cap, el segment apical assoleix uns 0,50 μm de longitud per 100 nm de gruix màxim.

El segment principal té una longitud de 2,5 μm en la cara plana del cap i de 2,8 μm en l'altra cara. El gruix del segment principal és estable, 80 nm aproximadament (Làmina XXI: Fig. A) (Làmina XXII: Fig. A) (Làmina XXIII: Fig. 4).

El segment equatorial té una longitud de 2,3 μm , un gruix de 40 nm en les dues cares del cap i un gruix de 80 nm als costats del cap (Làmina XXI: Fig. B).

• La làmina densa postacrosòmica.

La làmina densa postacrosòmica es disposa contra la cara citoplasmàtica de la membrana plasmàtica i abasta el 20% de la longitud del nucli, coincidint amb la regió del nucli no coberta per la vesícula acrosòmica (Làmina XXII: Fig. B). Aquesta regió del cap, a la qual no arriba la vesícula acrosòmica i on es desenvolupa la làmina densa, és coneguda com a regió postacrosòmica (Làmina XXIII: Fig. 1). Aquesta làmina, formada per material fibrós i electrodens, presenta un gruix de 25 nm i una longitud de 1,4 μm (Làmina XXI: Fig. C). La membrana plasmàtica cobreix la vesícula acrosòmica i discorre estretament adherida a la làmina densa postacrosòmica (Làmina XXI: Fig. B). La membrana plasmàtica es desprèn molt fàcilment de la membrana acrosòmica externa però es manté estretament unida a la làmina densa postacrosòmica (Làmina XXI: Fig. B).

• L'espai subacrosòmic.

L'espai subacrosòmic (o perinuclear) és l'espai existent entre el nucli i la membrana acrosòmica interna o la cara interna de la làmina densa postacrosòmica (Làmina XXI:

Figs. A, B i C). L'espai subacrosòmic es troba especialment desenvolupat en la regió supranuclear, és a dir, per sota del segment apical de l'acrosoma (Làmina XXII: Fig. A). En aquesta regió, l'espai subacrosòmic pren forma cònica, amb un diàmetre a la base de 80 nm i una alçada de 120 nm. En les dues cares del cap i al llarg del segment principal de l'acrosoma, l'espai subacrosòmic es redueix a 25 nm de gruix (Làmina XXI: Fig. A). En les dues cares del cap i al llarg del segment equatorial de l'acrosoma, l'espai subacrosòmic augmenta fins a 40 nm de gruix i arriba al desenvolupament màxim en la regió postacrosòmica (70 nm) (Làmina XXI: Figs. B i C). L'espai subacrosòmic augmenta considerablement en els costats del cap (70 nm) corresponents als segments principal i equatorial de la vesícula acrosòmica. En els costats del cap corresponents a la regió postacrosòmica, l'espai subacrosòmic és pràcticament inexistent i es produeix el contacte entre el material fibrós perinuclear i la làmina densa postacrosòmica (Làmina XXI: Figs. C i D). L'espai subacrosòmic està ocupat per una matriu poc electrodensa i un material fibrós perinuclear o subacrosòmic de major electrodensitat (Làmina XXI: Figs. A, B, C i D) (Làmina XXII: Figs. B i C).

• **El material fibrós perinuclear.**

El material fibrós perinuclear (o subacrosòmic) es disposa formant una làmina electrodensa al voltant del nucli i a una distància d'aquest de 15 nm. El desenvolupament d'aquesta làmina és màxim en la regió postacrosòmica del cap i arriba a un gruix d'uns 15 nm. En la regió acrosòmica del cap la làmina és més prima, menys compacta i menys electrodensa (Làmina XXII: Fig. B).

• **El nucli.**

El nucli conté una cromatina molt condensada i electrodensa. La longitud del nucli és de 6,6 µm i el gruix varia en les dues regions del cap. En la regió acrosòmica el gruix del nucli és de 220 nm i en la regió postacrosòmica de 320 nm, aproximadament (Làmina XXI: Figs. A, B, C i D) (Làmina XXII: Figs. A, B i C).

1.2.2. La peça de connexió.

En el coll o peça de connexió es distingeixen les estructures següents: la placa basal, els cossos laminars, el capitulum, les columnes segmentades, el cos basal i l'axonema. El coll de l'espermatozoide abasta des de la base del nucli fins a la primera mitocondria de la peça intermèdia. Al llarg del recorregut de la membrana plasmàtica per

la peça de connexió i la regió postacrosòmica del cap, s'observa una lleugera escotadura circular just en el límit entre ambdues parts del gàmeta (Esquema 2) (Làmina XXIII: Fig. 1).

• **La placa basal.**

La placa basal està formada per un material electrodens d'aspecte i gruix molt semblants als de la làmina densa postacrosòmica. S'estén al llarg d'uns 0,6 μm , adherida a la membrana externa de l'embolcall nuclear. El gruix de la placa basal és d'uns 30 nm (Làmina XXII: Fig. C).

• **Els cossos laminars.**

Els cossos laminars s'estenen al llarg de 1,2 μm des de la base del nucli fins a les primeres mitocòndries de la peça intermèdia. Els cossos laminars procedeixen d'evaginacions molt pronunciades de l'embolcall nuclear (Làmina XXIII: Fig. 5). Les evaginacions parteixen del perímetre de la base nuclear i es dirigeixen cap a la beina mitocondrial de la peça intermèdia. Els cossos laminars es disposen com un cilindre, les parets del qual presenten un gruix de 150 nm (Làmina XII: Fig. C) (Làmina XXI: Fig. E).

• **El capitulum i les columnes segmentades.**

El capitulum és una estructura arciforme que es disposa per sota i a uns 40 nm de la placa basal (Làmina XXIII: Figs. 2 i 5). Les nou columnes segmentades parteixen dels extrems del capitulum i es dirigeixen cap a la peça intermèdia (Làmina XXII: Fig. C). Així com els cossos laminars de la peça de connexió es continuen amb la beina mitocondrial de la peça intermèdia, les columnes segmentades de la peça de connexió es continuen amb les fibres denses de la peça intermèdia. El capitulum i les columnes segmentades són estructures electrodenses d'uns 130 nm de gruix. Les columnes segmentades s'individualitzen en nombre de nou més enllà dels 0,3 μm de distància del capitulum (Làmina XXI: Figs. E i F). Al llarg dels primers 0,3 μm les columnes segmentades es toquen entre si i, en conseqüència, en aquesta zona és més correcte referir-se a perllongacions del capitulum que a columnes pròpiament dites. Les columnes segmentades, ja individualitzades, presenten forma cilíndrica i discorren al llarg d'uns 0,8 μm cap a la peça intermèdia, englobant l'axonema en un espai cilíndric d'uns 220 nm de diàmetre (Làmina XXI: Fig. F). Al llarg de les columnes segmentades s'hi observen dos tipus d'estriacions transversals de disposició periòdica alterna, unes més conspicues i les altres menys definides (Làmina XXIII: Fig. 3). La distància entre dues estries conspicues consecutives és de 80 nm, i entre una de conspicua i la menys definida consecutiva és de 40 nm.

• **El cos basal i l'axonema.**

El cos basal es disposa a la base de la convexitat que defineixen el capitulum i les columnes segmentades, és a dir, en un espai d'uns 220 nm de diàmetre per 260 nm d'alçada (Làmina XXII: Fig. C). Els triplets de microtúbuls del cos basal es disposen en petites depressions del capitulum. Aquestes depressions marquen els límits dels esbossos de les columnes segmentades. El cos basal es disposa en un angle de 45° respecte a l'eix longitudinal del gàmeta (Làmina XXIII: Fig. 5). A partir del cos basal s'organitza un axonema que, atravesant l'espai limitat per les columnes segmentades, s'estendrà al llarg de tota la cua de l'espermatozoide. Les nou columnes segmentades es disposen entre els cossos laminars i els respectius nou doblets de microtúbuls perifèrics de l'axonema.

1.2.3. La peça intermèdia.

En la peça intermèdia es distingeixen les estructures següents: l'axonema, la beina mitocondrial, les fibres denses i els grànuls perifèrics (Esquemes 1 i 2).

• **L'axonema.**

L'axonema ocupa l'eix central de la peça intermèdia, presenta la fórmula microtubular típica 9+2 i disposa dels elements axonemàtics típics (braços de dineïna, fibres de nexina, radis, pont i beina centrals (Làmina XXI: Figs. G i H) (Làmina XXII: Fig. D).

• **La beina mitocondrial.**

Per sota la membrana plasmàtica trobem la beina mitocondrial. Aquesta beina presenta un gruix d'uns 80 nm i està formada per diverses mitocòndries allargades, de 150 nm de diàmetre, disposades helicoidalment (Làmina XII: Fig. D). La matriu mitocondrial és molt electrodensa i les crestes es disposen paral·lelament a la doble membrana mitocondrial (Làmina XXI: Figs. G i H).

• **Les fibres denses.**

Les fibres denses són estructures citoesquelètiques, filamentoses i electrodenses disposades entre la beina mitocondrial i cadascun dels doblets de microtúbuls perifèrics de l'axonema. S'estenen al llarg de la peça intermèdia i del primer terç de la peça principal (Làmina XXII: Figs. D i E). El gruix i diàmetre de les fibres denses es van reduint progressivament i són màxims en la zona limit amb la peça de connexió (Làmina XXI:

Figs. G, H i I). En secció transversal, les fibres denses presenten forma piramidal truncada amb la base estreta dirigida cap els doblats microtubulars i amb la base ampla, de contorn curvilini, dirigida cap a la beina mitocondrial (Làmina XXI: Fig. H). No totes les fibres denses presenten el mateix gruix ni el mateix diàmetre. En la zona proximal de la peça intermèdia, i utilitzant per a les fibres denses la mateixa numeració que per als doblats microtubulars de l'axonema, les fibres núm. 1, 5 i 6 presenten un gruix mitjà de 110 nm i un diàmetre de 150 nm, i les fibres núm. 2, 3, 4, 7, 8 i 9 presenten un gruix mitjà de 80 nm i un diàmetre de 110 nm. En la zona distal de la peça intermèdia, les fibres núm. 1, 5 i 6 presenten un gruix mitjà de 160 nm i un diàmetre de 40 nm, i les fibres restants un gruix mitjà de 70 nm i un diàmetre de 60 nm (Làmina XXI: Figs. G i H).

• **Els grànuls perifèrics.**

Únicament en la zona proximal de la peça intermèdia poden observar-se uns grànuls electrodensos, distribuïts entre les fibres denses. Es tracta de grànuls d'uns 15 nm de diàmetre màxim que van desapareixent a mesura que les fibres denses arriben a la zona distal de la peça intermèdia (Làmina XXI: Figs. G i H).

1.2.4. La peça principal.

En la peça principal distingim les estructures següents: la beina fibrosa, les fibres denses, l'annulus o anell de Jensen i l'axonema (Esquemes 1 i 2).

• **La beina fibrosa i les fibres denses.**

La beina fibrosa de la peça principal, molt electrodensa, substitueix la beina mitocondrial de la peça intermèdia. En la beina fibrosa es distingeixen dos elements: els eixos i les costelles.

Els eixos fibrosos es disposen entre la membrana plasmàtica i els doblats de microtúbuls núm. 3 i 8. El gruix dels eixos és màxim (110 nm) en el primer terç de la peça principal i, al llarg dels dos terços següents, disminueix progressivament fins a equiparar-se al gruix de les costelles (75 nm) (Làmina XXI: Figs. I i K). Al llarg del primer terç de la peça principal, el gran desenvolupament dels eixos determina l'absorció de les fibres denses núm. 3 i 8. Les fibres denses restants, que únicament s'estenen al llarg del primer terç de la peça principal, disminueixen progressivament de gruix fins a desaparèixer. Els dos terços posteriors de la peça principal es distingeixen del primer terç per l'absència de fibres

denses i perquè el gruix dels eixos fibrosos s'igualava al de les costelles (75 nm) (Làmina XXI: Figs. I i K).

Ambdós eixos fibrosos es mantenen units per les costelles. Les costelles fibroses es disposen concèntricament i regular al llarg de la peça principal. L'espai entre costella i costella és de 15 nm, aproximadament. El diàmetre de les costelles es manté constant al llarg de la peça principal (40 nm). El gruix de les costelles, juntament amb el gruix dels eixos, es van reduint progressivament a mesura que la beina fibrosa s'aproxima a la peça terminal (Làmina XXII: Figs. F i G)

• **L'annulus o anell de Jensen.**

L'annulus o anell de Jensen és una estructura electrodensa disposada en el límit entre la peça intermèdia i la peça principal. És anular i separa la beina mitocondrial de la beina fibrosa. Presenta un gruix d'uns 130 nm i un diàmetre de 160 nm. Està en contacte amb la darrera mitocòndria de la beina mitocondrial i a uns 15 nm de les primeres costelles de la beina fibrosa. La membrana plasmàtica s'adhereix estretament a l'annulus (Làmina XXII: Fig. E).

1.2.5. La peça terminal.

En la peça terminal no hi ha cap estructura citoesquelètica. Està formada, únicament, per la membrana plasmàtica i l'axonema (Esquema 1). La membrana plasmàtica, que en altres peces de la cua descriu un contorn circular més o menys llis, en aquesta peça pren un aspecte fistonejat (Làmina XXI: Fig. 1). L'axonema es desorganitza progressivament a mesura que s'allunya de la peça principal. Desapareix, en primer lloc, el microtúbul B de cada doblet perifèric i, finalment, la desorganització microtubular farà impossible distingir l'estructura axonemàtica 9+2 (Làmina XXI: Fig. 1) (Làmina XXII: Fig. G).

Esquema 1. Seccions transversals al nivell del cap i de la cua de l'espermatozoide de *Sus domesticus* en què s'indiquen els principals components.

A. Cap: *regió acrosòmica.*

MF, material fibrós perinuclear; **N**, nucli; **P**, plasmalema; **VA**, vesícula acrosòmica.

B. Cap: *regió postacrosòmica.*

L, làmina densa postacrosòmica; **MF**, material fibrós perinuclear; **N**, nucli; **P**, plasmalema.

C. Cua: *peça intermèdia o regió mitocondrial.*

A, axonema; **BM**, beina mitocondrial; **FD**, fibres denses; **P**, plasmalema.

D. Cua: *zona proximal de la peça principal.*

A, axonema; **BF**, beina fibrosa; **FD**, fibres denses; **P**, plasmalema.

E. Cua: *zona medial de la peça principal.*

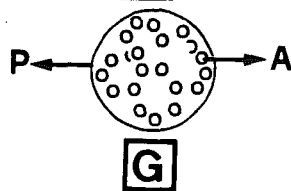
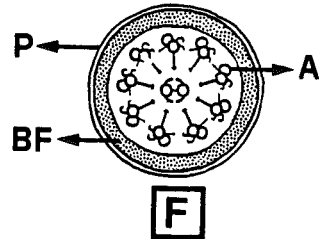
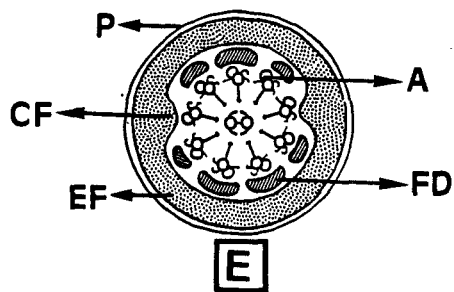
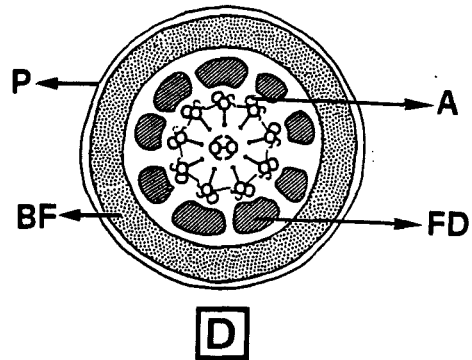
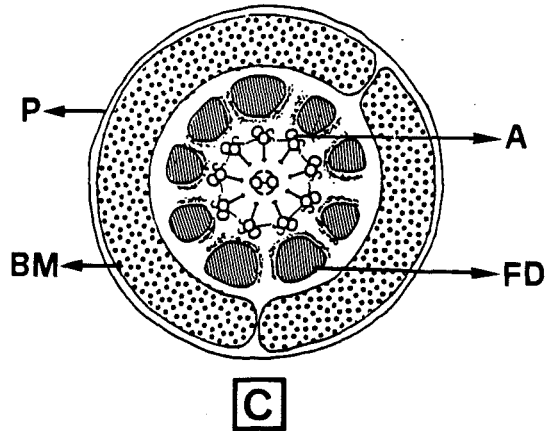
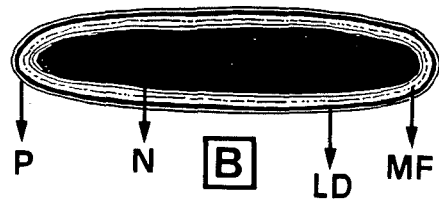
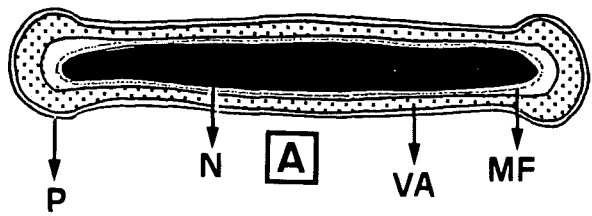
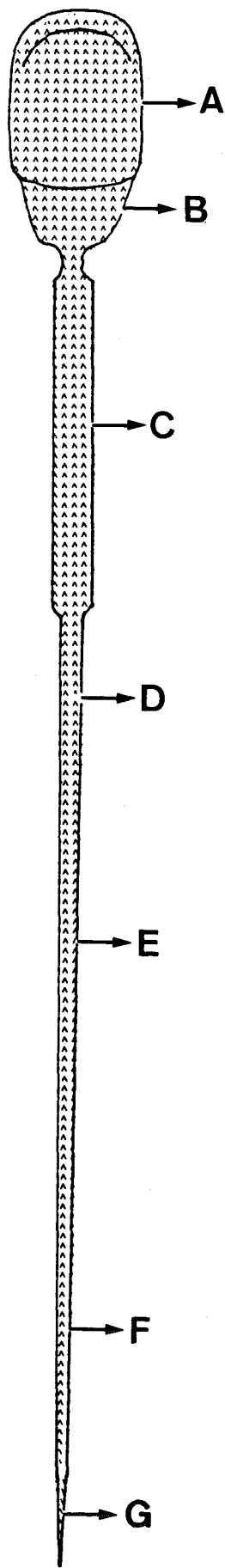
A, axonema; **CF**, eixos o columnes de la beina fibrosa; **EF**, costelles de la beina fibrosa; **FD**, fibres denses; **P**, plasmalema.

F. Cua: *zona distal de la peça principal.*

A, axonema; **BF**, beina fibrosa; **P**, plasmalema.

G. Cua: *peça terminal.*

P, plasmalema; **A**, axonema.



Esquema 2. Seccions longitudinals al nivell del cap, del coll i de la cua de l'espermatozoide de *Sus domesticus* en què s'indiquen els principals components.

A. Cap: segments apical i principal de la regió acrosòmica.

ESA, espai subacrosòmic; **MF**, material fibrós perinuclear; **N**, nucli; **P**, plasmalema; **SA**, segment apical de la vesícula acrosòmica; **SP**, segment principal de la vesícula acrosòmica .

B. Cap: segment equatorial de la regió acrosòmica i regió postacrosòmica.

LD, làmina densa postacrosòmica; **MF**, material fibrós perinuclear; **N**, nucli; **P**, plasmalema; **SE**, segment equatorial de la vesícula acrosòmica.

C. Cap: regió postacrosòmica. Coll o peça de connexió.

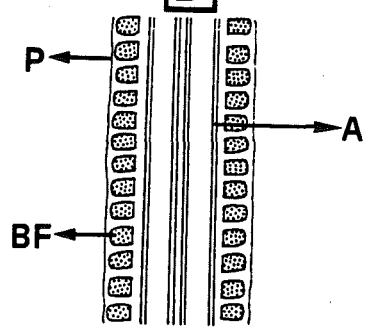
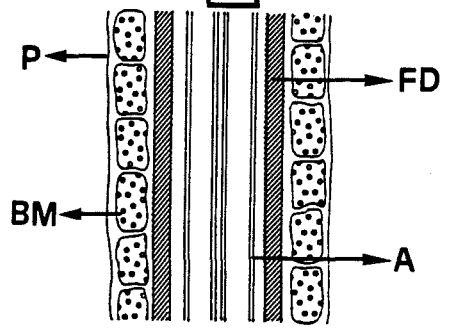
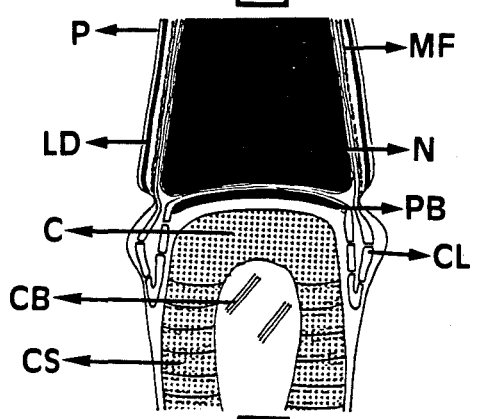
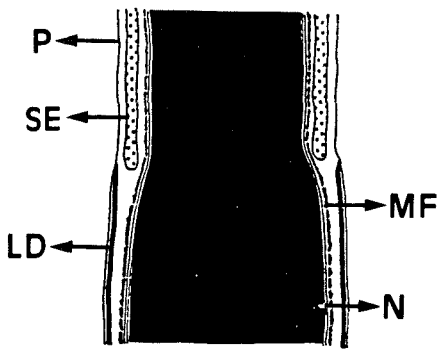
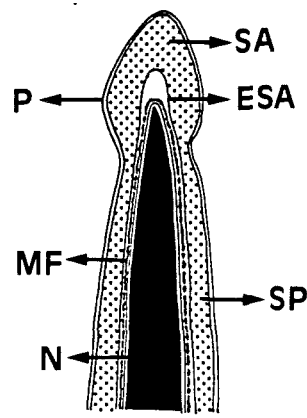
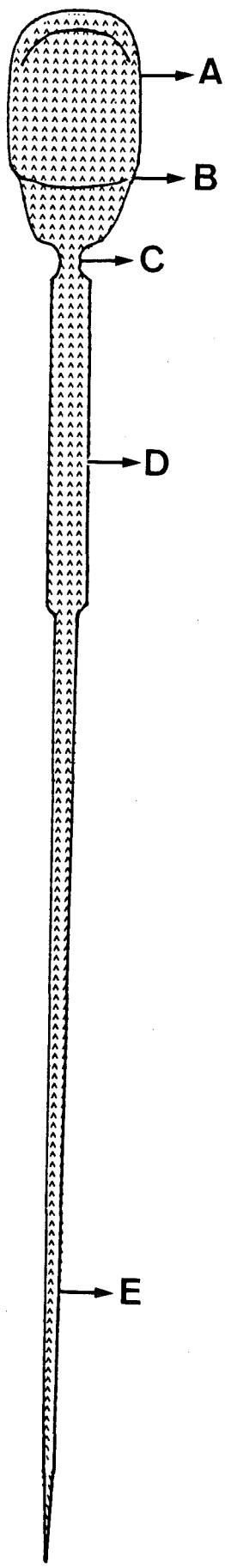
C, capitulum; **CB**, cos basal; **CL**, cossos laminars; **CS**, columnes segmentades; **LD**, làmina densa postacrosòmica; **MF**, material fibrós perinuclear; **N**, nucli; **P**, plasmalema; **PB**, placa basal.

D. Cua: peça intermèdia o regió mitocondrial.

A, axonema; **BM**, mitocòndries de la beina mitocondrial; **FD**, fibres denses; **P**, plasmalema.

E. Cua: regió distal de la peça principal.

A, axonema; **BF**, costelles de la beina fibrosa; **P**, plasmalema.



2. L'ESPERMATOZOIDE IMMADUR.

En un ejaculat normal de *Sus domesticus* hom pot trobar entre un 5% i un 15% d'espermatozoides immadurs.

L'espermatozoide immadur presenta, respecte al madur, tres característiques diferencials: la presència de la gota citoplasmàtica, el major desenvolupament de la protuberància acrosòmica apical i la major flexibilitat del cap.

La gota citoplasmàtica és una massa de citoplasma residual produïda en les darreres etapes del procés espermiogènic. Té un diàmetre aproximat de 1,5 µm. La gota citoplasmàtica engloba, generalment, una petita part de la peça intermèdia i conté un citoplasma poc electrodens i ric en vesícules (Làmina XXX). La peça intermèdia pot emplaçar-se al centre de la gota citoplasmàtica (Làmina XXX: Figs. 2 i 4) o bé situar-se molt desplaçada del centre fins a prendre gairebé contacte amb el plasmalema (Làmina XXX: Fig. 1). El nombre i el desenvolupament de les vesícules augmenten a mesura que la gota citoplasmàtica ocupa posicions més distals de la peça intermèdia (Làmina XXX). Hom pot observar dues modalitats vesiculars: les vesícules limitades per doble membrana i les vesícules limitades per una única membrana (Làmina XXX: Fig. 3). Les vesícules de doble membrana presenten una matriu clara i un diàmetre constant d'aproximadament 0,2 µm (Làmina XXX: Fig. 3). Provenen de cisternes del reticle endoplasmàtic llis que es tanquen sobre si mateixes i engloben material hialoplasmàtic (Làmina XXX: Fig. 1 i 4). Les vesícules d'una única membrana, originades per dilatacions del reticle endoplasmàtic, també contenen una matriu d'escassa electrodensitat. Aquestes darreres vesícules es fusionen unes amb les altres i donen lloc a vesícules molt més grans. El diàmetre d'aquestes vesícules és molt variable i oscil·la entre 0,1 µm i 0,9 µm (Làmina XXX: Figs. 2, 3 i 4). La gota citoplasmàtica es pot trobar al nivell de la peça de connexió o a qualsevol nivell de la peça intermèdia. Apareix en el coll de l'espermatozoide i, desplaçant-se al llarg de tota la peça intermèdia, abandona l'espermatozoide just en el límit entre la peça intermèdia i la principal (Làmina II: Fig. 6) (Làmina VIII: Figs. 2 i 3). Hi ha dues posicions extremes de la gota citoplasmàtica, la proximal, quan ocupa la peça de connexió (Làmina II: Figs. 3 i 4), i la distal, quan ocupa la zona de l'anell de Jensen (Làmina II: Figs. 4 i 5). Així doncs, utilitzant aquest criteri hom pot distingir, bàsicament, dos tipus d'espermatozoides immadurs: els espermatozoides amb gota citoplasmàtica proximal i els espermatozoides amb gota citoplasmàtica distal (Làmina VII: Figs. 1 i 3) (Làmina VIII: Figs. 3 i 4).

En els espermatozoides immadurs, la protuberància acrosòmica apical presenta un major desenvolupament que en els espermatozoides madurs. En l'espermatozoide madur

l'amplada i la longitud externes de la protuberància acrosòmica apical són de 400 nm i 1,2 µm, respectivament; i en l'espermatozoide immadur l'amplada i la longitud externes d'aquesta protuberància augmenten fins als 600 nm i 4,5 µm, respectivament (Làmina VIII: Fig. 1).

El cap dels espermatozoides immadurs presenta major flexibilitat que el dels espermatozoides madurs (Làmina VII: Figs. 1 i 2). En el cap dels espermatozoides immadurs és freqüent observar plegaments i deformacions de diversos tipus. Els plegaments cefàlics, més o menys intensos, es produeixen, generalment, a través d'un pla transversal (Làmina VII: Fig. 4) (Làmina VIII: Fig. 6) i, més rarament, a través d'un pla longitudinal frontal (Làmina VIII: Fig. 5). La deformació cefàlica més habitual és la desviació lateral de la regió acrosòmica del cap respecte a l'eix longitudinal de la cèl.lula (Làmina VIII: Fig. 4).

3. ELS ESPERMATOZOIDES ABERRANTS.

En un ejaculat normal de *Sus domesticus* hom pot trobar entre un 1% i un 2% d'espermatozoides aberrants.

3.1. Morfologia externa i classificació.

D'acord amb la morfologia externa dels espermatozoides, les malformacions observades poden ser agrupades en: (a) malformacions que afecten la mida o la forma del cap, (b) malformacions que afecten la longitud de la cua, (c) malformacions que afecten la trajectòria de la cua, (d) malformacions que afecten el nombre de cues, (e) malformacions que afecten el nombre de caps, (f) malformacions que afecten l'aglutinació espermàtica, i (g) malformacions que afecten l'estabilitat del cap o de la cua.

3.1.1. Malformacions que afecten la mida o la forma del cap.

Al microscopi òptic hom pot observar espermatozoides amb formes cefàliques anòmales com cap allargat (Làmina I: Fig. 6), cap en forma de flama (Làmina I: Fig. 7), cap oval (Làmina I: Figs. 8 i 9) i cap arrodonit (Làmina I: Fig. 10); i espermatozoides amb mides

cefàliques atípiques com espermatozoides microcefàlics (Làmina I: Figs. 3, 11 i 12) (Làmina III: Fig. 2) i espermatozoides macrocefàlics (Làmina I: Fig. 4).

Al microscopi electrònic d'escànnning hom pot precisar més detalls referents a aquestes malformacions. El cap dels espermatozoides macrocefàlics (Làmina IX: Fig. 1) presenta una longitud d'uns 7 μm i una amplada de 4,6 μm , és a dir, un micròmetre més ample que el cap dels espermatozoides normals. El cap dels espermatozoides microcefàlics és arrodonit i presenta una amplada de 3,5 μm i una longitud de 5,0 μm , és a dir, dos micròmetres menys que la longitud cefàlica dels espermatozoides normals (Làmina IX: Fig. 2). Quan el cap dels espermatozoides esdevé allargat (Làmina IX: Fig. 4), la seva longitud augmenta fins als 7,6 μm i la seva amplada es redueix fins a 3,0 μm . El microscopi electrònic d'escànnning permet distingir altres malformacions que afecten la forma i la mida del cap dels espermatozoides. Els espermatozoides amb cap cilíndric (Làmina IX: Fig. 5) presenten una implantació abaxial de la cua i un cap petit de 5,5 μm de longitud i 2,3 μm de diàmetre. Els espermatozoides amb el cap doblegat presenten un cap de dimensions normals que, a diferència dels espermatozoides immadurs, es doblega per un pla longitudinal sagital (Làmina IX: Fig. 3). Els espermatozoides amb el cap petit i irregular (4,0 μm de longitud i 2,5 μm d'amplada màxima) poden presentar una implantació de la cua perpendicular a la cara plana del cap (Làmina IX: Fig. 6). Els espermatozoides amb el cap arrodonit (6,6 μm de longitud per 4,3 μm d'amplada) poden presentar dilatacions apicals, d'un micròmetre de diàmetre, que afecten la protuberància acrosòmica (Làmina IX: Fig. 7).

3.1.2. Malformacions que afecten la longitud de la cua.

La longitud de la cua pot modificar-se per doblegament de la cua o com a conseqüència de l'escàs o nul desenvolupament d'alguna de les peces que la componen (Làmina X).

Hom pot trobar espermatozoides amb el cap triangular (7 μm de longitud i 3,6 μm d'amplada màxima a la base del cap) i amb la cua doblegada per la peça intermèdia (Làmina X: Fig. 1). La cua es doblega per la peça intermèdia i el doblegament és cimentat per restes citoplasmàtiques, probablement derivades de la gota citoplasmàtica. La peça principal segueix un recorregut antiparal·lel al de la peça intermèdia i es fusiona amb el perímetre cefàlic per sota de la protuberància acrosòmica (Làmina X: Fig. 1).

En alguns espermatozoides la cua es doblega per l'anell de Jensen de forma que les dues peces restants (principal i terminal) donen voltes a l'entorn de la peça intermèdia. La cua

d'aquests espermatozoides presenta una longitud i un diàmetre màxims de 10,5 i 1,2 μm , respectivament (Làmina X: Fig. 2).

Dins del grup d'espermatozoides de cua curta destaquen aquells que no reuneixen totes les peces de la cua. Es tracta d'espermatozoides en què la cua està formada únicament per les peces intermèdia i terminal. La peça intermèdia, de longitud i diàmetre normals, no és seguida per la peça principal, sinó per una peça terminal incipient. La longitud total de la cua d'aquests espermatozoides no excedeix els 11 μm (Làmina X: Fig. 3).

Hi ha espermatozoides que, a més de destacar per l'absència d'alguna peça de la cua, destaquen per l'escàs desenvolupament de les altres. Així, hom pot observar espermatozoides amb una única peça, la intermèdia, més curta (6,8 μm) i gruixuda (1,2 μm) que la peça intermèdia d'un espermatozoide madur (9 μm de longitud i 0,7 μm de diàmetre) (Làmina X: Fig. 4).

3.1.3. Malformacions que afecten la trajectòria de la cua.

Al microscopi òptic hom pot distingir entre dues grans modalitats de malformacions que afecten la trajectòria de la cua: el doblegament i l'enrotllament. Hom pot trobar espermatozoides amb la cua doblegada per la peça de connexió (Làmina I: Fig. 13) o per l'anell de Jensen (Làmina I: Figs. 18 a 22) i espermatozoides amb la cua parcialment o totalment enrotllada (Làmina I: Figs. 14 a 17) (Làmina II: Fig. 11) (Làmina III: Fig. 3).

Els microscopis de contrast de fases i de contrast interferencial ens permeten observar els diversos estadis del desenvolupament de la malformació "cua doblegada per l'anell de Jensen" a partir d'espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal (Làmina III: Figs. 4 a 10) (Làmina II: Figs. 12 i 13). La cua es doblega progressivament per l'anell de Jensen i la gota citoplasmàtica cimenta i fa irreversible aquest doblegament (Làmina III: Figs. 5 a 7). En un primer estadi, la peça principal pren contacte amb la peça intermèdia (Làmina III: Fig. 8), més tard, ho fa amb la peça de connexió (Làmina III: Fig. 9) (Làmina I: Figs. 18 a 21) i, finalment, es fusiona amb el cap (Làmina I: Fig. 22) (Làmina III: Fig. 10). La malformació "cua enrotllada" presenta també diversos estadis de desenvolupament. L'enrotllament de la cua afecta, generalment en primer lloc, la peça intermèdia (Làmina I: Figs. 14 i 15) i, després, la peça principal i la terminal (Làmina I: Figs. 16 i 17).

El microscopi electrònic d'escànnig permet apreciar més aspectes dels processos de doblegament i d'enrotllament de la cua. Pel que fa a la malformació "cua doblegada per l'anell de Jensen", hom pot observar: (a) la fusió de la membrana plasmàtica de la peça principal amb el plasmalema de la peça intermèdia, el de la peça de connexió i el del cap

(Làmina XI: Fig. 1), (b) que la peça principal es fusiona amb la cara plana del cap (Làmina XI: Fig. 3), i (c) que al llarg del procés de doblegament de la cua, la peça principal no inicia la fusió amb la peça intermèdia i amb el cap fins que no està totalment doblegada (Làmina XII: Figs. 1 a 4). Cal assenyalar que un espermatozoide pot presentar la cua doblegada per l'anell de Jensen sense que aquest doblegament s'hagi d'entendre com una malformació (Làmina XI: Fig. 2). La cua d'un espermatozoide pot trobar-se accidentalment doblegada si durant el procés de fixació de la mostra s'ha interromput el seu batec. Aquesta morfologia gàmetica normal es pot distingir de la malformació "cua doblegada per l'anell de Jensen" per l'absència de la gota citoplasmàtica i la no fusió de membranes entre les peces de la cua (Làmina XI: Fig. 2). Pel que fa a la malformació "cua enrotllada", cal assenyalar que la microscòpia electrònica d'escànnig permet diferenciar diverses subtipologies d'acord amb la grandària i la forma del cap, el major o menor desenvolupament de l'enrotllament i l'orientació del pla d'enrotllament respecte al pla cefàlic. En aquest sentit, hom pot distingir entre els espermatozoides següents:

- a) espermatozoides amb el cap normal i la cua amb totes les peces totalment enrotllades en un pla paral·lel a les dues cares cefàliques (Làmina XIII: Fig. 2);
- b) espermatozoides amb el cap lleugerament allargat ($7.7 \mu\text{m}$ de longitud i $3,5 \mu\text{m}$ d'amplada) i la cua mancada d'alguna de les seves peces i totalment enrotllada en un pla paral·lel a les dues cares cefàliques. L'absència d'alguna de les peces de la cua es posa de manifest per l'escàs desenvolupament de l'enrotllament (Làmina XIII: Fig. 4);
- c) espermatozoides microcefàlics ($5,8 \mu\text{m}$ de longitud i $3,3 \mu\text{m}$ d'amplada cefàlica) amb un enrotllament de la cua d'escàs desenvolupament i disposat en un pla paral·lel a les dues cares cefàliques (Làmina XIII: Fig. 2);
- d) espermatozoides amb el cap petit i oval ($6,1 \mu\text{m}$ de longitud i $3,3 \mu\text{m}$ d'amplada) i amb la cua constituïda per totes les peces, totalment enrotllades en un pla perpendicular al de les dues cares cefàliques (Làmina XIII: Fig. 3);
- e) espermatozoides amb el cap petit i el·líptic ($6,6 \mu\text{m}$ de longitud i $3,3 \mu\text{m}$ d'amplada), i amb un enrotllament de la cua poc desenvolupat i disposat en un pla paral·lel a les dues cares cefàliques (Làmina XIII: Fig. 5).

3.1.4. Malformacions que afecten el nombre de cues.

Els espermatozoides amb dues cues són, generalment, gàmetes de cap normal i amb cues enteres i totalment fusionades (Làmina I: Fig. 2). Atenent a la grandària del cap, a la

longitud de les dues cues i a l'estat de fusió de les cues, hom pot distingir les subtipologies següents:

- a) espermatozoides amb el cap normal i amb dues cues enteres totalment fusionades (Làmina XIV: Fig. 1);
- b) espermatozoides amb el cap petit i arrodonit, i amb dues cues enteres totalment fusionades (Làmina XIV: Fig. 2);
- c) espermatozoides macrocefàlics (7,5 µm de longitud i 5,1 µm d'amplada cefàlica) i amb dues cues enteres totalment fusionades (Làmina XIV: Fig. 3);
- d) espermatozoides amb el cap curt i ample (6,3 µm de longitud i 4,0 µm d'amplada) i amb dues cues no enteres de desigual longitud i diàmetre i no fusionades. La cua més llarga està formada per una única peça, la intermèdia, de 16,6 µm de longitud i 0,66 µm de diàmetre. La cua més curta, de 8,6 µm de longitud i 0,33 µm de diàmetre, està formada per dues peces, la principal i la terminal. Les dues cues s'insereixen directament a la base del cap de l'espermatozoide (Làmina XIV: Fig. 4).

3.1.5. Malformacions que afecten el nombre de caps.

Es tracta d'espermatozoides amb dos o tres caps i amb les respectives dues o tres cues fusionades i més o menys enrotllades (Làmina II: Figs. 7 a 10).

Atenent al nombre de caps i al grau d'enrotllament de les cues, hom pot distingir quatre tipologies:

- a) espermatozoides amb dos caps i les dues cues fusionades i no enrotllades. En aquest cas, les cues es fusionen descrivint una doble hèlice (Làmina XV: Fig. 2);
- b) espermatozoides amb dos caps i les cues fusionades i parcialment enrotllades (Làmina XV: Figs. 3 i 4). L'enrotllament de les cues afecta, en primer lloc, la peça intermèdia i, progressivament, va afectant les altres peces de la cua (Làmina XVI: Figs. 1 a 4). En les primeres fases de l'enrotllament de les cues, els dos caps es troben separats (Làmina XVI: Figs. 1 i 2) i, a mesura que avança l'enrotllament, els dos caps s'apropen fins a superposar-se (Làmina XVI: Figs. 3 i 4);
- c) espermatozoides amb dos caps i les dues cues fusionades i totalment enrotllades (Làmina XV: Fig. 1). En aquests espermatozoides els caps es disposen en plans paral·lels, bé superposats totalment (Làmina XVII: Fig. 1), bé superposats formant un angle de 45° (Làmina XVII: Fig. 3). L'enrotllament de la cua es disposa en un pla paral·lel al dels dos caps (Làmina XVII: Fig. 4). Hom pot trobar, també, espermatozoides

en què els dos caps es disposen en plans perpendiculars i les dues cues s'enrotllen formant un cilindre (Làmina XVII: Fig. 2);

d) espermatozoides amb tres caps i les cues completament enrotllades (Làmina XVII: Fig. 5). En ocasions, l'escàs desenvolupament de l'enrotllament de les cues podria estar provocat per l'absència d'una cua o per la manca d'alguna de les seves peces (Làmina XVII: Fig. 6).

3.1.6. Malformacions que afecten l'aglutinació espermàtica.

Hom pot observar diversos tipus d'aglutinació espermàtica segons les regions per on s'adhereixin els espermatozoides mòbils entre si. Així doncs, es poden trobar espermatozoides aglutinats cap amb cap (H-H), cua amb cua (T-T) i cap amb cua (H-T). Els espermatozoides que presenten aglutinació cap amb cap s'adhereixen per les respectives cares planes dels caps, les quals es troben oposades front a front (Làmina XVIII: Fig. 1). Els espermatozoides aglutinats cua amb cua (T-T) mostren una trajectòria lleugerament helicoidal de les cues (Làmina XVIII: Fig. 2).

3.1.7. Malformacions que afecten l'estabilitat del cap o de la cua.

Es tracta d'espermatozoides en què la cua s'ha després del cap. Aquest trencament de la cua pot produir-se entre la peça de connexió i la intermèdia (Làmina I: Fig. 5) o bé entre el cap i la peça de connexió (Làmina XIX: Fig. 1). El resultat d'aquests trencaments fa que es puguin observar caps isolats o cues isolades d'espermatozoides madurs i immadurs (Làmina XIX: Figs. 3 i 4). En ocasions, el trencament es produeix en espermatozoides amb el cap petit (5,5 µm de longitud i 3,5 µm d'amplada) entre la peça de connexió i la intermèdia (Làmina XIX: Fig. 2).

3.2. Ultraestructura i classificació.

Els espermatozoides aberrants, atenent al tipus d'anomalies ultraestructurals observades, poden ser classificats en: (a) espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen, (b) espermatozoides amb dues cues fusionades, (c) espermatozoides amb la cua enrotllada, (d) espermatozoides amb l'estructura axonemàtica incompleta, (e)

espermatozoides amb la beina mitocondrial alterada, (f) espermatozoides amb vesícules axonemàtiques, (g) espermatozoides amb vesiculització perifèrica de la cua, (h) espermatozoides amb citoplasma residual, i (i) espermatozoides amb alteracions cefàliques.

3.2.1. Espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen.

La cua es doblega pel límit entre la peça intermèdia i la principal, i el doblegament es cimenta per restes citoplasmàtiques derivades de la gota citoplasmàtica en posició distal (Làmina XXIV: Fig. G). En aquesta zona, la peça principal corre antiparal·lela respecte a la peça intermèdia, de forma que els doblats microtubulars núm. 5 i 6 de la peça principal es disposen contra els doblats microtubulars núm. 5 i 6 de la peça intermèdia. Al llarg del recorregut de la peça principal per la peça intermèdia, hom pot observar com les restes citoplasmàtiques van desapareixent i com la beina fibrosa provoca una lleugera depressió de la beina mitocondrial (Làmina XXIV: Fig. F). En aquesta zona, el doblet microtubular núm. 3 de la peça principal es disposa contra els doblats microtubulars núm. 7 i 8 de la peça intermèdia. En el límit entre la peça intermèdia i la de connexió, la depressió de la beina mitocondrial provocada per la beina fibrosa és molt menor i el doblet microtubular núm. 8 de la peça principal es disposa contra el doblet microtubular núm. 8 de la peça intermèdia (Làmina XXIV: Fig. E). Al llarg del recorregut de la peça principal per la peça de connexió, els doblats microtubulars núm. 1 i 9 de la peça principal es disposen contra el doblet microtubular núm. 6 de la peça de connexió (Làmina XXIV: Fig. D). En el límit entre la peça de connexió i la regió postacrosòmica del cap, la peça principal es disposa sota la membrana plasmàtica i interromp la disposició concèntrica dels cossos laminars (Làmina XXIV: Fig. C). Al llarg de la regió postacrosòmica del cap, la peça principal es disposa entre la membrana plasmàtica i la làmina densa postacrosòmica. En aquesta regió és freqüent observar figures de mielina disposades entre la làmina densa postacrosòmica i el material fibrós perinuclear (Làmina XXIV: Fig. B). Al llarg de la regió acrosòmica del cap, la peça principal es disposa entre la membrana plasmàtica i la vesícula acrosòmica (Làmina XXIV: Fig. A).

3.2.2. Espermatozoides amb dues cues fusionades.

Es tracta d'espermatozoides amb dos eixos axonemàtics complets (Làmina XXV: Fig. A). Al llarg de tot el trajecte els dos eixos axonemàtics corren paral·lels, de forma que els doblats microtubulars núm. 5 i 6 d'un eix axonemàtic es disposen contra els doblats microtubulars núm. 5 i 6 de l'altre eix axonemàtic (Làmina XXV: Figs. D a G). Depenent de la zona examinada, hom pot trobar que els dos eixos axonemàtics: (a) estan molt separats l'un de l'altre per una massa citoplasmàtica molt desenvolupada (Làmina XXV: Figs. D i E) o, (b) es troben en contacte per les respectives beines mitocondrials (Làmina XXV: Figs. F i G). El contacte entre els eixos axonemàtics apareix en la zona més distal de la peça intermèdia (Làmina XXV: Figs. F i G) per la fusió de les respectives beines mitocondrials (Làmina XXV: Fig. F). El citoplasma residual, molt abundant des de la peça de connexió fins a la zona medio-distal de la peça intermèdia (Làmina XXV: Fig. B a F), es redueix considerablement a partir de la zona distal de la peça intermèdia (Làmina XXV: Fig. G).

3.2.3. Espermatozoides amb la cua enrotllada.

Els espermatozoides amb la cua enrotllada presenten l'eix axonemàtic descrivint diverses circumval·lacions a l'interior d'una massa citoplasmàtica rica en elements vesiculars de doble membrana i en restes del reticle endoplasmàtic llis (Làmina XXVI: Figs. 1 a 5). La morfologia d'aquest citoplasma és molt semblant a la que presenta la gota citoplasmàtica d'un espermatozoide immadur (Làmina XXVI: Fig. 4) (Làmina XXX: Figs. 1, 3 i 4). L'eix axonemàtic es disposa a la perifèria de la massa citoplasmàtica (Làmina XXVI: Figs. 2 i 5). Hom pot observar figures cel·lulars degenerades caracteritzades per la plasmòlisi citoplasmàtica i per l'absència d'algunes estructures microtubulars dels eixos axonemàtics (Làmina XXVI: Fig. 3).

3.2.4. Espermatozoides amb l'estructura axonemàtica incompleta.

Hom ha pogut observar tres tipus d'anomalies axonemàtiques per absència d'elements microtubulars: (a) absència del doblet microtubular perifèric núm. 9 (Làmina XXVII: Fig. 1), (b) absència del doblet microtubular perifèric núm. 8 (Làmina XXVII: Fig. 2), i (c) absència de la parella de microtúbuls centrals (Làmina XXVII: Fig. 3).

3.2.5. Espermatozoides amb la beina mitocondrial alterada.

Les dues principals afeccions de la beina mitocondrial són la tumefacció mitocondrial i la disposició irregular de les mitocòndries de la beina.

La tumefacció mitocondrial afecta, generalment, les primeres mitocòndries de la beina mitocondrial (Làmina XXVII: Fig. 4). Es tracta de mitocòndries d'un diàmetre fins a cinc vegades superior (0,5 a 0,6 μm) al diàmetre de les mitocòndries normals de la beina (0,1 a 0,2 μm). Aquestes mitocòndries es caracteritzen per presentar una matriu molt clara i absència de crestes mitocondrials. La membrana mitocondrial interna no emet crestes i corre paral·lela a la membrana mitocondrial externa (Làmina XXVII: Figs. 2 i 4).

Una altra modificació de la beina mitocondrial consisteix en la distribució anòmala de les mitocòndries de la beina. En aquests casos, a més de les mitocòndries de la beina, distribuïdes regularment de forma helicoidal, apareixen mitocòndries supernumeràries afegides externament a la beina que determinen una lleugera deformació del perímetre circular de la peça intermèdia (Làmina XXVII: Figs. 6 i 7).

3.2.6. Espermatozoides amb vesícules axonemàtiques.

En alguns espermatozoides hom pot observar, al nivell de la regió distal de la peça principal, la presència de vesícules axonemàtiques. Es tracta de vesícules allargades i aplanades que contenen una matriu molt clara i estan disposades entre la beina fibrosa i els doblats perifèrics de l'axonema. La posició d'aquestes vesícules és constant i desplacen els doblats microtubulars núm. 5 i 6 cap el centre de l'axonema (Làmina XXVII: Figs. 5 i 8).

3.2.7. Espermatozoides amb vesiculització perifèrica de la cua.

Hom pot trobar vesiculització perifèrica a qualsevol alçada de les tres primeres peces de la cua de l'espermatozoide (Làmina XXVIII). Les vesícules es disposen a la perifèria i alteren el perímetre circular de la cua. El desenvolupament de la vesícula és major a mesura que es va desplaçant des de la peça de connexió a la peça principal. A la peça de connexió, la vesícula, d'uns 0,3 μm de diàmetre, es disposa entre els cossos laminars i el plasmalema (Làmina XXVIII: Fig. 1). A la peça intermèdia, la vesícula, d'uns 0,35 μm de diàmetre, es disposa entre la beina mitocondrial i el plasmalema i provoca una profunda deformació de les mitocòndries de la beina (Làmina XXVIII: Fig. 2). A la peça principal, la

vesícula, d'uns 0,4 µm de diàmetre, es disposa entre la beina fibrosa i el plasmalema i no provoca deformacions importants a les costelles de la beina (Làmina XXVIII: Fig. 3). Al nivell de la regió proximal de la peça principal es produeix la pèrdua de la vesícula per constricció a la seva base i posterior fusió del plasmalema (Làmina XXVIII: Figs. 4 i 5).

L'origen d'aquestes vesícules es pot trobar en les grans vesícules presents en la gota citoplasmàtica dels espermatozoides immadurs (Làmina XXX: Figs. 2 i 4) o en les expansions citoplasmàtiques presents en les peces de connexió d'alguns gàmetes (Làmina XXIX: Figs. 1 i 2).

3.2.8. Espermatozoides amb citoplasma residual.

El citoplasma residual apareix en la peça de connexió i en la peça intermèdia de dues formes: (a) com a expansions citoplasmàtiques i (b) com a pel·lícules citoplasmàtiques perimitocondrials.

Les expansions citoplasmàtiques es disposen a la base del cap, just en el limit entre la peça de connexió i la regió cefàlica postacrosòmica. Es tracta de projeccions citoplasmàtiques filiformes o digitiformes d'1 µm de longitud i 0,1 µm de diàmetre ocupades per un citoplasma homogeni lleugerament electrodens (Làmina XXIX: Fig. 1). Aquestes projeccions poden encorbar-se fins a fusionar-se pel seu extrem lliure amb la membrana plasmàtica de la peça de connexió (Làmina XXIX: Fig. 2). Aquest és un dels possibles orígens de les vesícules perifèriques descrites en l'apartat anterior. Hom pot trobar, també, expansions citoplasmàtiques fungiformes al nivell de la regió més distal de la peça intermèdia (Làmina XXIX: Fig. 5). En aquests casos, l'expansió citoplasmàtica neix a partir d'una pel·lícula citoplasmàtica perimitocondrial molt desenvolupada (Làmina XXIX: Fig. 5).

En un espermatozoide normal, l'espai entre el plasmalema i la membrana externa de les mitocòndries de la beina mitocondrial és molt reduït, aproximadament d'uns 15 nm. En alguns casos, aquest espai es troba molt ampliat, 100 nm, i ocupat per un citoplasma granular, homogeni i lleugerament electrodens; es tracta de l'anomenada pel·lícula citoplasmàtica perimitocondrial (Làmina XXIX: Figs. 3 i 4).

3.2.9. Espermatozoides amb alteracions cefàliques.

La vesiculització i dilatació acrosòmiques i la presència de figures de mielina o de vacúols nuclears són algunes de les malformacions cefàliques més freqüents. Hom pot trobar, també, malformacions que afecten alhora la forma nuclear i l'aspecte del nucli, així com l'aspecte de la vesícula acrosòmica.

La vesiculització i dilatació de l'acrosoma pot afectar tota la vesícula acrosòmica o, majoritàriament, els segments apical i principal de l'acrosoma (Làmina XXXI: Figs. 1 i 4). Aquesta malformació es caracteritza per l'elevat desenvolupament de la vesícula acrosòmica i per l'aspecte del contingut acrosòmic. La matriu de l'acrosoma està ocupada per petites vesícules, per elements fibrosos i per masses de material electrodens distribuïts de forma heterogènia en una matriu acrosòmica d'aspecte clar i granular (Làmina XXXI: Figs. 1 i 4).

Les figures de mielina, més o menys desenvolupades, es disposen en la regió postacrosòmica, entre la làmina densa postacrosòmica i el material fibrós perinuclear (Làmina XXXI: Fig. 2). Quan aquestes figures de mielina assoleixen un volum considerable, provoquen una lleugera deformació del perímetre cefàlic (Làmina XXXI: Fig. 3).

Els vacúols nuclears són zones nuclears esferoïdals molt pobres en cromatina o sense cromatina (Làmina XXXI: Fig. 5). Es disposen, preferentment, en la regió nuclear postacrosòmica i el diàmetre varia des dels 80 nm als 250 nm. Si el vacúol nuclear assoleix un volum considerable, pot arribar a provocar una lleugera dilatació del nucli que afecta el perímetre de la regió cefàlica postacrosòmica (Làmina XXXI: Fig. 5).

Hi ha dilatacions cefàliques que afecten la forma del nucli i de l'acrosoma, així com l'aspecte del contingut de la vesícula acrosòmica. El nucli s'encorba, el segment apical de l'acrosoma es dilata i ambdós queden englobats per un citoplasma ric en vesícules i cisternes del reticle endoplasmàtic (Làmina XXXI: Figs. 6 i 7).

4. LES CÈL.LULES SOMÀTIQUES.

Les cèl.lules somàtiques presents en l'ejaculat són esfèriques i d'uns 12 µm de diàmetre (Làmina XX: Fig. 1). Són poc freqüents i, en algunes ocasions, hom pot observar-les englobant la regió cefàlica d'espermatozoides immadurs, preferentment amb gota citoplasmàtica distal (Làmina XX: Figs. 2 i 3).

Les característiques ultraestructurals d'aquestes cèl.lules són les pròpies de les cèl.lules macrofàgiques. Són cèl.lules mononucleades però amb un nucli profundament lobulat (Làmina XXXII: Fig. 1). El nucli conté cromatina finament granular i unes masses heterocromàtiques escasses, disperses pel nucleoplasma o associades a l'embolcall nuclear. El nuclèol és molt prominent i mostra clarament diferenciades la part fibril·lar i granular. Aquesta morfologia nuclear és pròpia de cèl.lules amb una activitat nuclear molt elevada. El citoplasma és molt abundant i ric en vesícules lisosòmiques i vacúols de fagocitosi (Làmina XXXII: Figs. 1 i 2). Aquestes cèl.lules degeneren en l'ejaculat i s'observen figures caracteritzades per l'aspecte picnòtic del nucli i l'aspecte plasmolitzat del citoplasma (Làmina XXXII: Fig. 3)

LÀMINA I

Figures: 1 a 22.

LÀMINA I.

Aspecte dels espermatozoides madurs i d'algunes malformacions espermàtiques al microscopi òptic de camp clar. *Mètode Panòptic Ràpid de QCA*. 1300 X.

Fig. 1. Espermatozoides madurs.

Fig. 2. Espermatozoide amb dues cues fusionades.

Fig. 3. Espermatozoide microcefàlic immadur amb gota citoplasmàtica proximal.

Fig. 4. Espermatozoide macrocefàlic amb cua doblegada per l'anell de Jensen.

Fig. 5. Espermatozoide amb el cap isolat. La cua s'ha trencat entre la peça de connexió i la peça intermèdia.

Fig. 6. Espermatozoide amb el cap allargat.

Fig. 7. Espermatozoide amb el cap en forma de flama.

Figs. 8 i 9. Espermatozoides amb el cap oval.

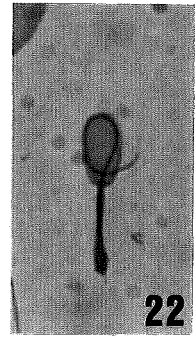
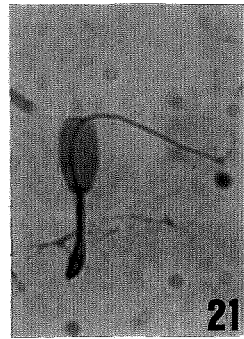
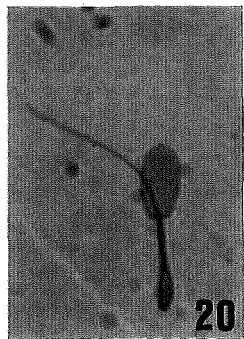
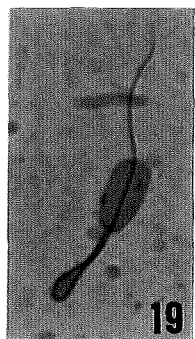
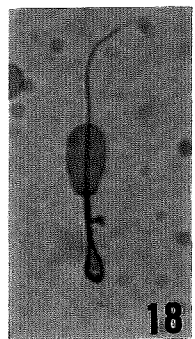
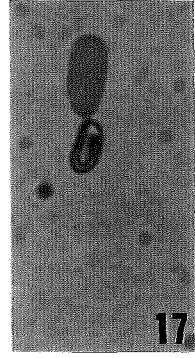
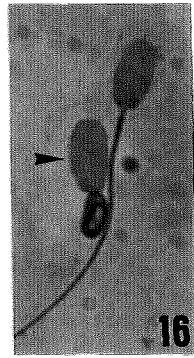
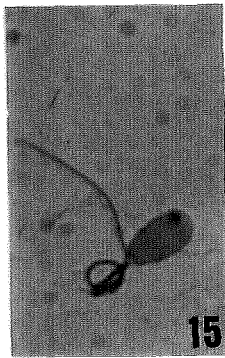
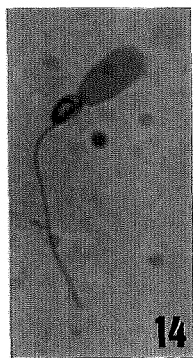
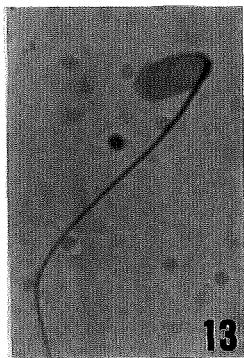
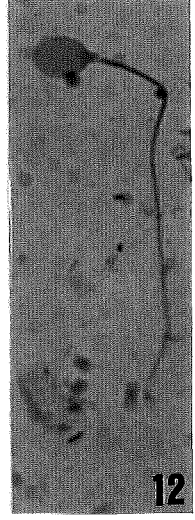
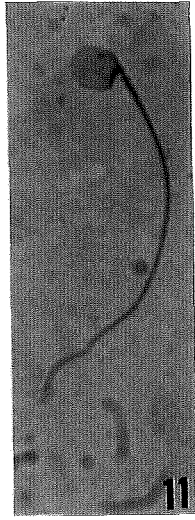
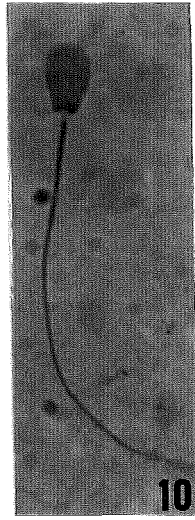
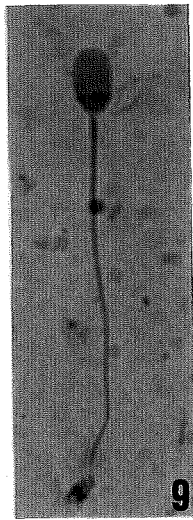
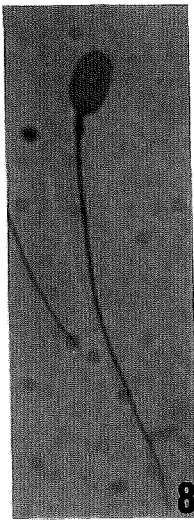
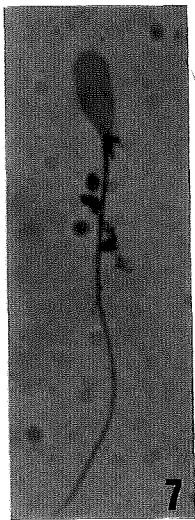
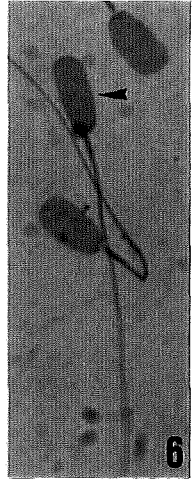
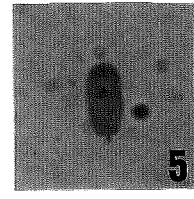
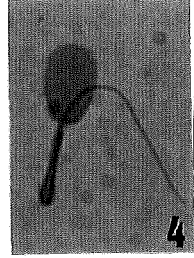
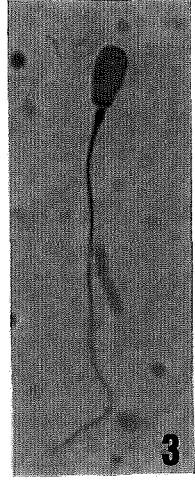
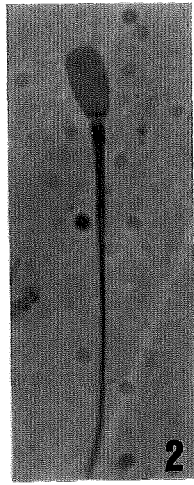
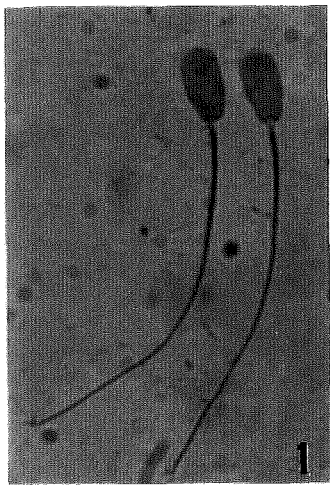
Fig. 10. Espermatozoide amb el cap lleugerament arrodonit.

Figs. 11 i 12. Espermatozoides amb el cap petit i arrodonit.

Fig. 13. Espermatozoide amb la cua doblegada per la peça de connexió.

Figs. 14 a 17. Espermatozoides amb diverses intensitats d'enrotllament de la cua.

Figs. 18 a 22. Espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen.



LÀMINA II

Figures: 1 a 13.

LÀMINA II.

Aspecte dels espermatozoides madurs, dels espermatozoides immadurs i d'algunes malformacions espermàtiques al microscopi òptic de contrast de fases. 1150 X.

Figs. 1 i 2. Espermatozoides madurs.

Figs. 3 i 4. Espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal.

Figs. 5 i 6. Espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal. En la figura 6 hom pot observar la presència d'una gota citoplasmàtica despresada (vegeu fletxa).

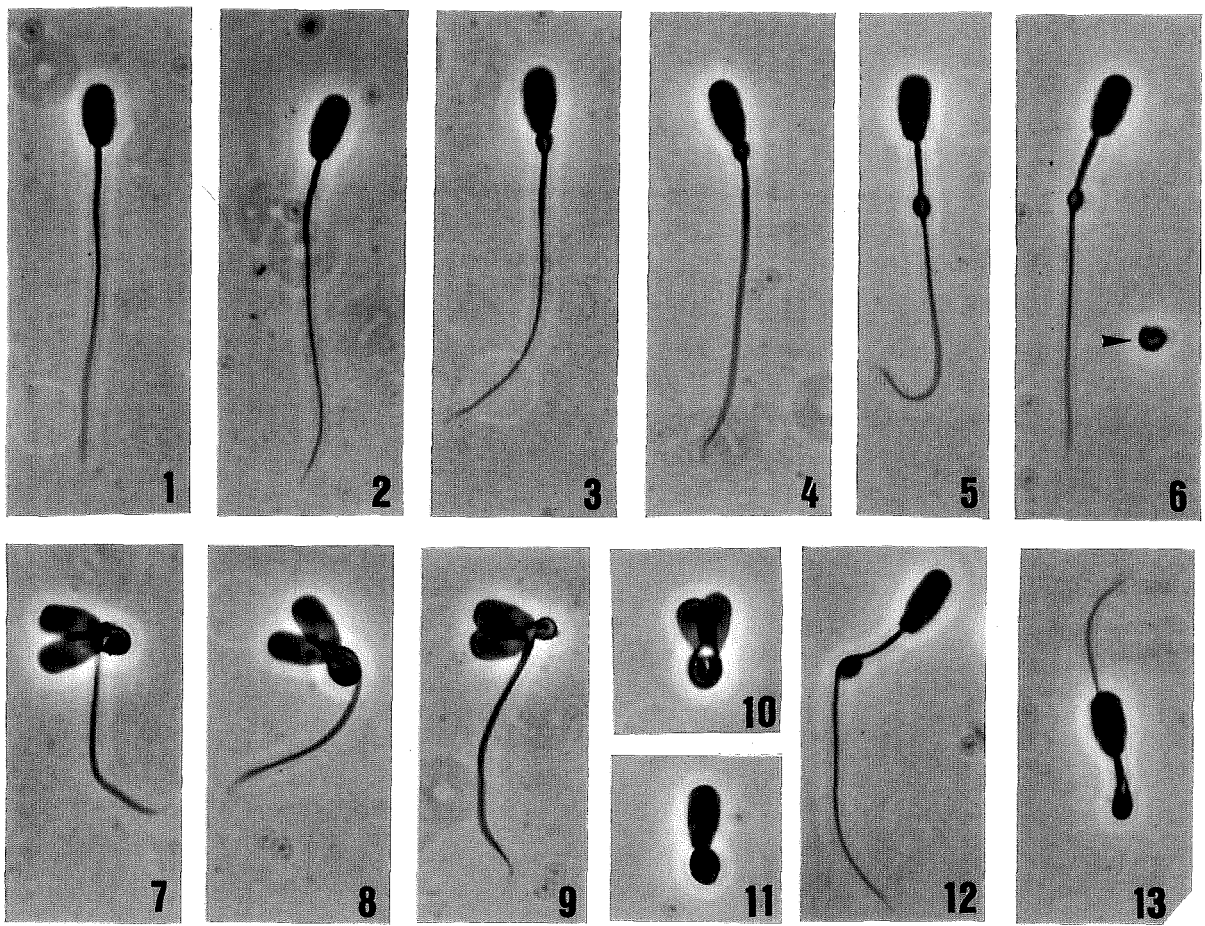
Figs. 7, 8 i 9. Espermatozoides amb dos caps i dues cues fusionades. Les cues presenten diversos graus d'enrotllament. L'enrotllament afecta, en primer lloc, la peça intermèdia i, després, la peça principal. La peça intermèdia es distingeix de la peça principal pel seu aspecte blavós i més refringent.

Fig. 10. Espermatozoide amb dos caps i la cua completament enrotllada.

Fig. 11. Espermatozoide amb un únic cap i la cua completament enrotllada.

Fig. 12. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. La gota citoplasmàtica se situa entre la peça intermèdia i la principal, i determina just en aquesta zona límit una lleugera curvatura de la cua. Si aquesta curvatura s'intensifica provocarà una malformació irreversible: l'espermatozoide de cua doblegada per l'anell de Jensen.

Fig. 13. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. La gota citoplasmàtica cementa el doblegament de la cua.



LÀMINA III

Figures: 1 a 10.

LÀMINA III.

Aspecte dels espermatozoides madurs, dels espermatozoides immadurs i d'algunes malformacions espermàtiques al microscopi òptic de contrast interferencial de Nomarski.

Fig. 1. Espermatozoide madur. 2150 X.

Fig. 2. Espermatozoide amb el cap arrodonit i la cua doblegada per l'anell de Jensen. 2150 X.

Fig. 3. Espermatozoide amb la cua completament enrotllada. 3000 X.

Fig. 4. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. 2150 X.

Fig. 5. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal i amb una lleugera curvatura de la cua on es troba la gota citoplasmàtica. 2150 X.

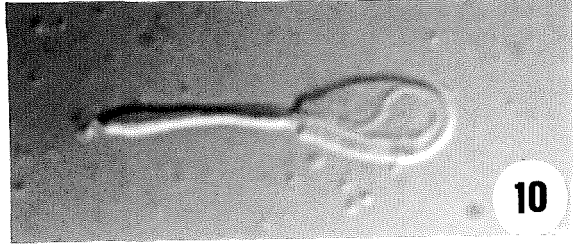
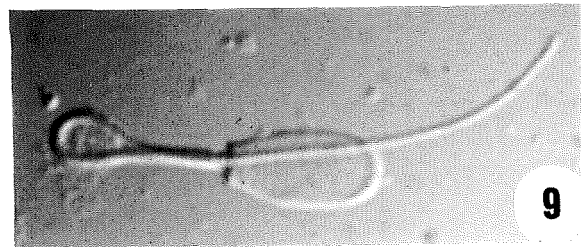
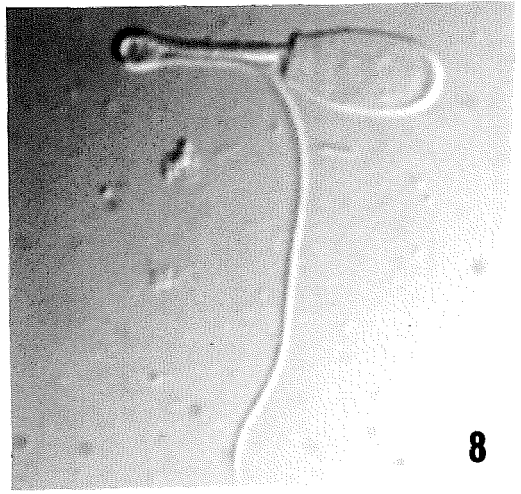
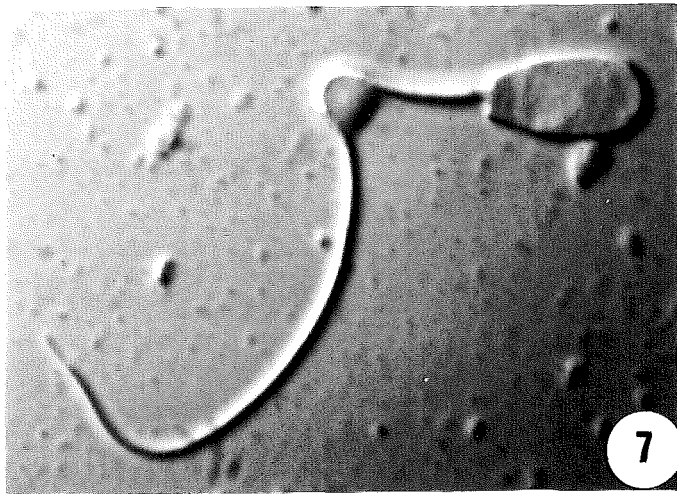
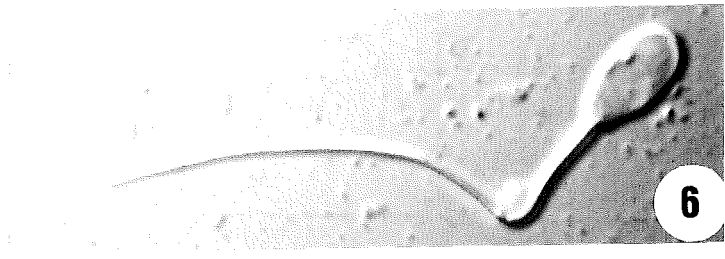
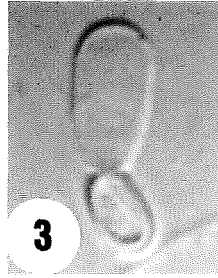
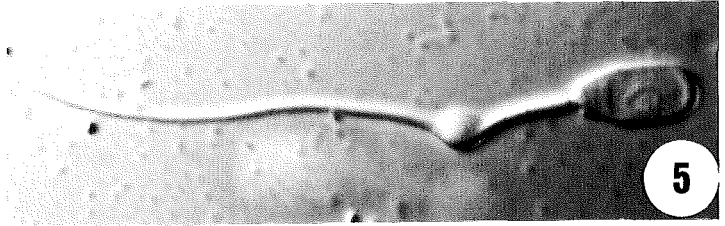
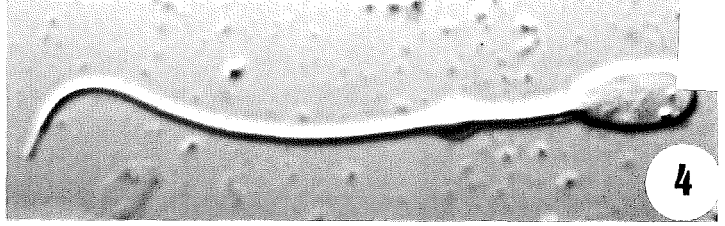
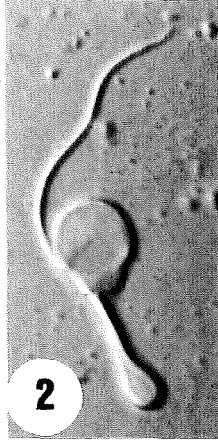
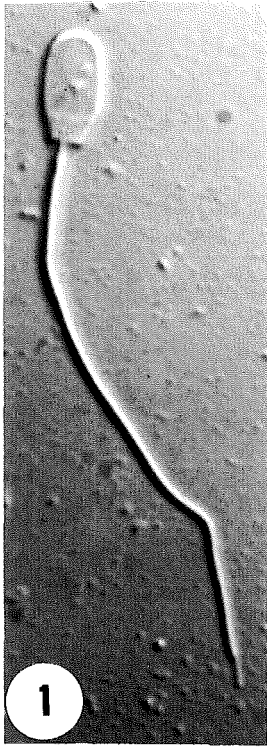
Fig. 6. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. El doblegament de la cua determina un angle de 90° entre la peça intermèdia i la principal. 2150 X.

Fig. 7. Espermatozoide immadur amb la gota citoplasmàtica distal. El doblegament de la cua determina un angle de 45° entre la peça intermèdia i la principal. 3000 X.

Fig. 8. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. El doblegament de la cua és total i determina un angle de 0° entre la peça intermèdia i la principal. La peça principal es fusiona amb la peça intermèdia, però no amb el cap. 3000 X.

Fig. 9. Espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. La peça principal es fusiona amb la peça intermèdia i amb el cap. 3000 X.

Fig. 10. Espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. La peça principal es fusiona amb la peça intermèdia i, replegant-se sobre si mateixa, es fusiona totalment amb el cap. 3000 X.



LÀMINA IV

Figures: 1 i 2.

LÀMINA IV.

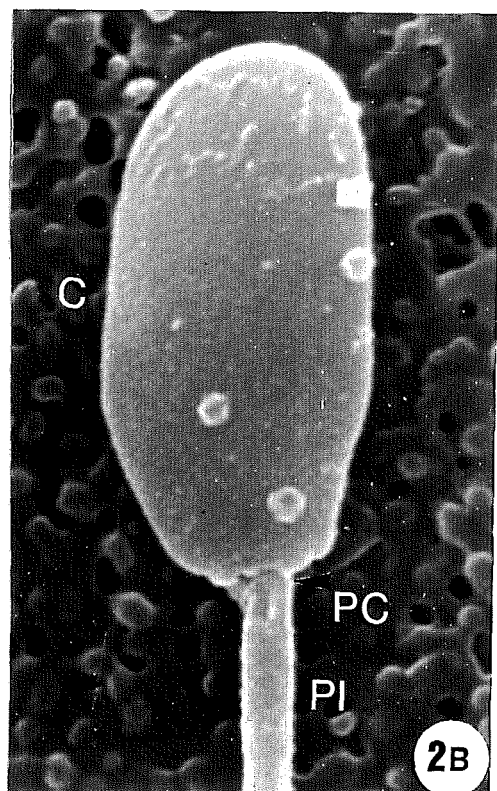
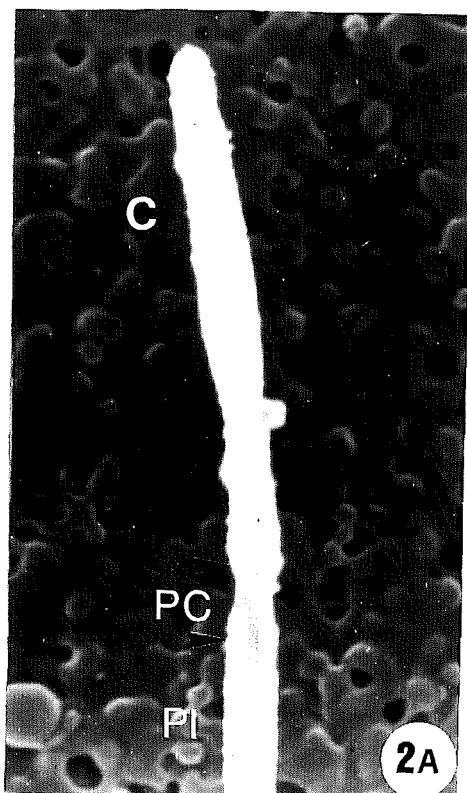
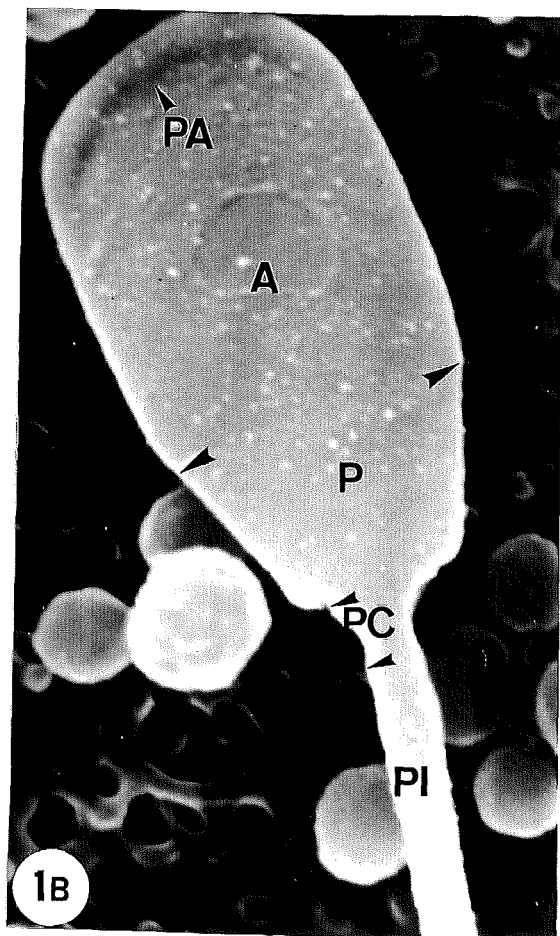
Aspecte dels espermatozoides madurs al microscopi electrònic d'escànnig.

Fig. 1. A. Aspecte general d'un espermatozoide madur per la cara del cap que presenta la protuberància acrosòmica apical. La part enquadrada és amplificada a la **figura 1B**. 2400 X.

B. Detall del cap d'un espermatozoide madur per la cara que presenta la protuberància acrosòmica (**PA**). Les fletxes marquen el límit de la regió acrosòmica (**A**) i la postacrosòmica (**P**) del cap, així com el límit de la peça de connexió (**PC**) i la intermèdia (**PI**). 12000 X.

Fig. 2. A. Perspectiva lateral del cap d'un espermatozoide madur. Les fletxes indiquen el límit del cap (**C**), la peça de connexió (**PC**) i la peça intermèdia (**PI**). Hom pot observar que el gruix de la peça intermèdia és superior al del cap i al de la peça de connexió. 10000 X.

B. Perspectiva frontal del cap d'un espermatozoide madur per la cara plana. Les fletxes indiquen el límit del cap (**C**), la peça de connexió (**PC**) i la peça intermèdia (**PI**). Hom pot observar l'escàs desenvolupament de la protuberància acrosòmica apical. 10000 X.



LÀMINA V

Figures: 1 i 2.

LÀMINA V.

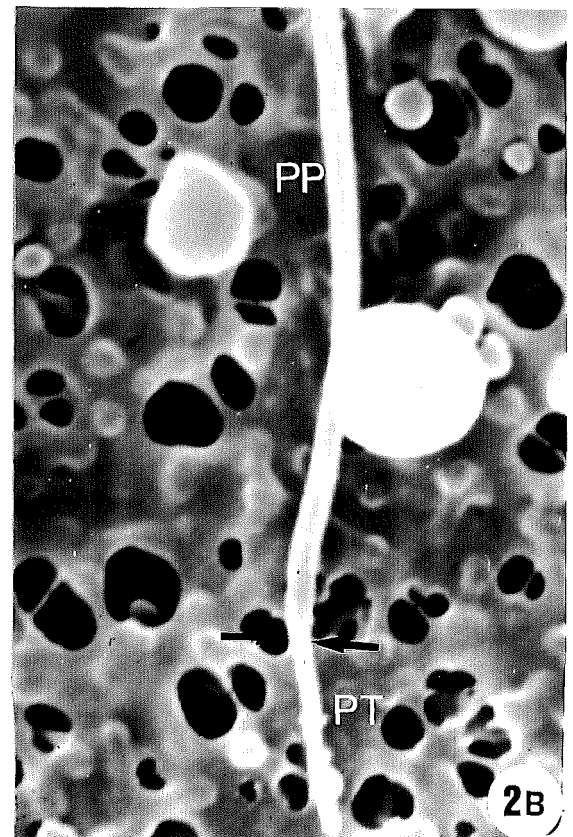
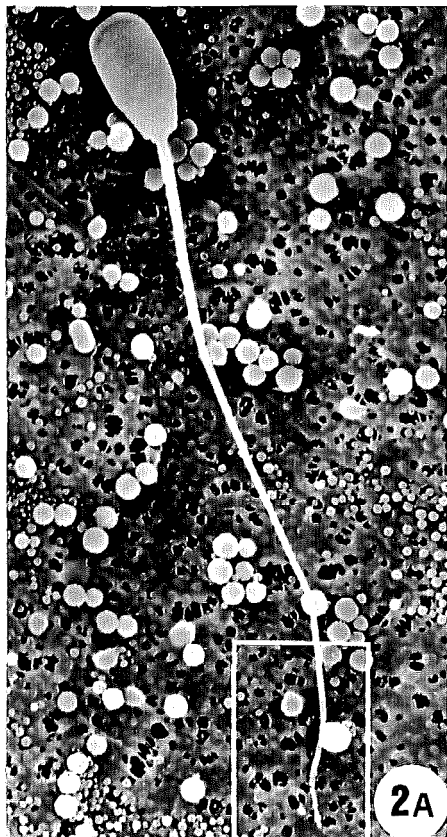
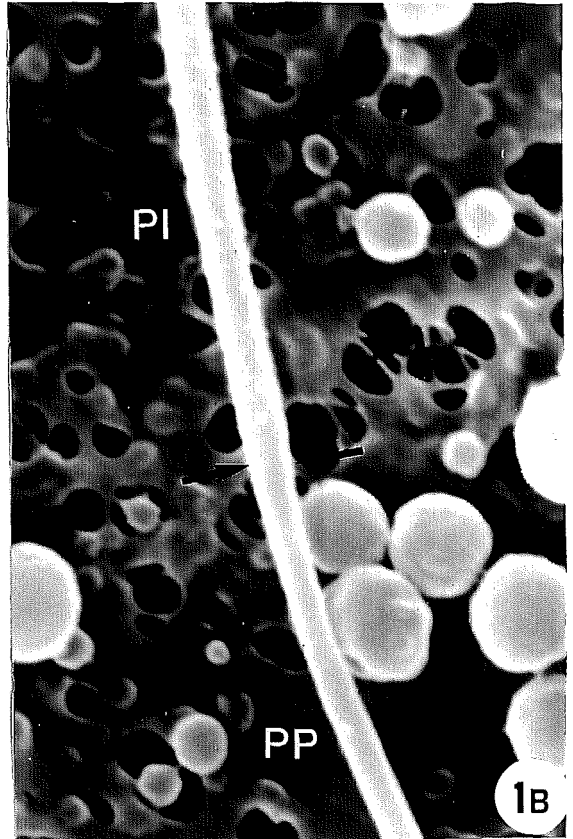
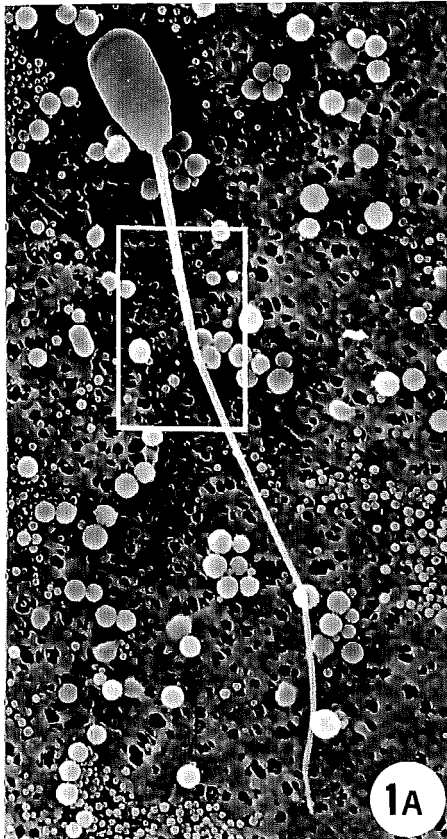
Espermatozoides madurs. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 1. A. Aspecte general d'un espermatozoide madur per la cara del cap que presenta la protuberància acrosòmica apical. La part enquadrada és amplificada a la **figura 1B**. 2400 X.

B. Detall de la peça intermèdia i de la principal de la cua d'un espermatozoide madur. La fletxa marca el límit entre ambdues peces. Hom pot observar que el gruix de la peça intermèdia (**PI**) és superior al de la peça principal (**PP**). 12000 X.

Fig. 2. A. Aspecte general d'un espermatozoide madur per la cara del cap que presenta la protuberància acrosòmica apical. La part enquadrada és amplificada a la **figura 2B**. 2400 X.

B. Detall de la peça principal i de la terminal de la cua d'un espermatozoide madur. La fletxa marca el límit entre ambdues peces. Hom pot observar que el gruix de la peça principal (**PP**) és superior al de la peça terminal (**PT**). 12000 X.



LÀMINA VI

Figures: 1 a 4.

LÀMINA VI.

Espermatozoides madurs. Microscòpia electrònica d'escànnning.

Fig. 1. A. Aspecte general d'un espermatozoide madur per la cara plana del cap. La part enquadrada és ampliada a la **figura 1B**. 1700 X.

B. Detall de la cara plana del cap (**C**), de la peça de connexió (**PC**) i de la peça intermèdia (**PI**) d'un espermatozoide madur. En la zona de la peça de connexió més pròxima al cap hom pot observar la presència d'una protuberància anular (**PA**). La peça de connexió té forma cònica. 8500 X.

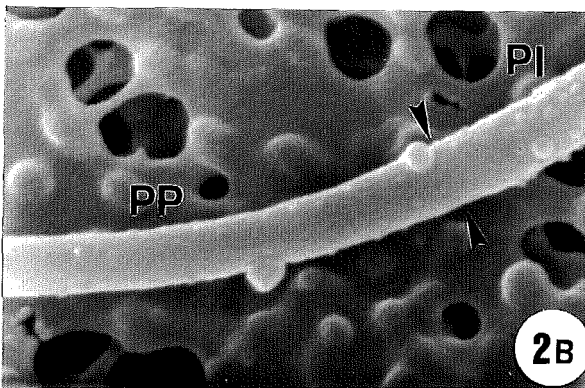
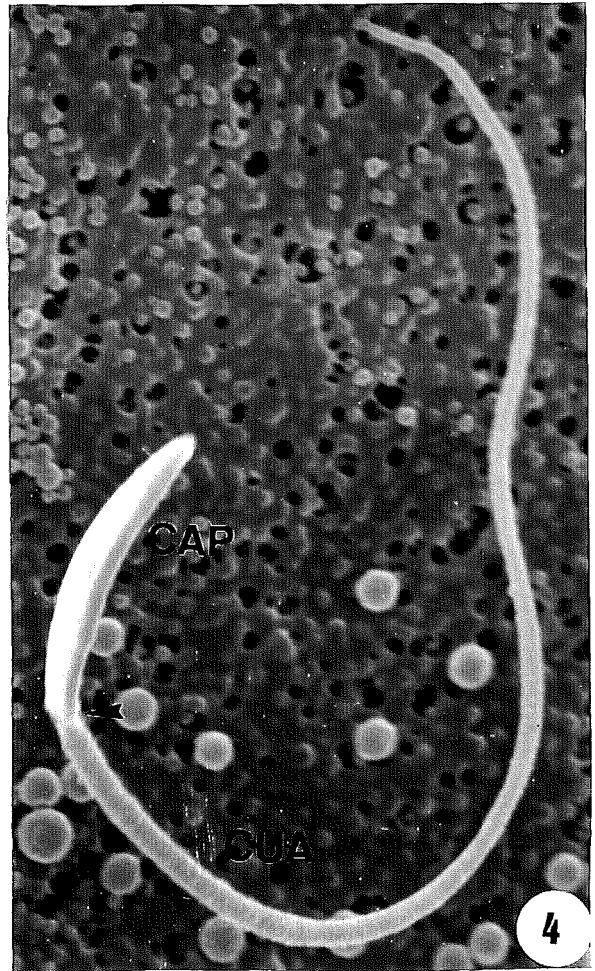
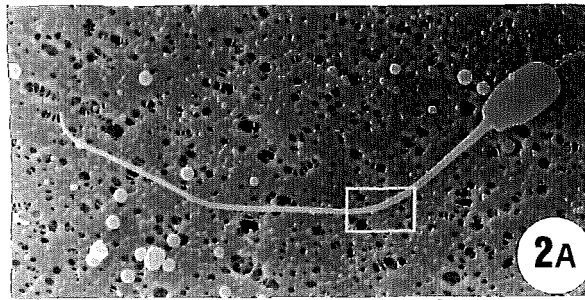
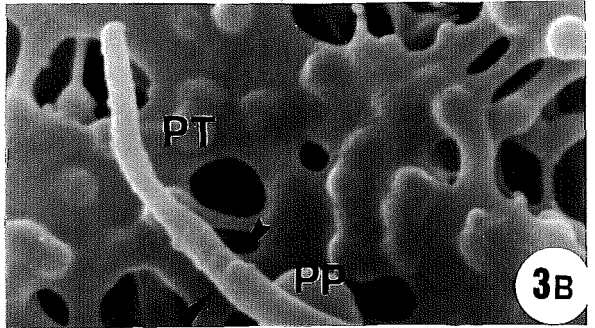
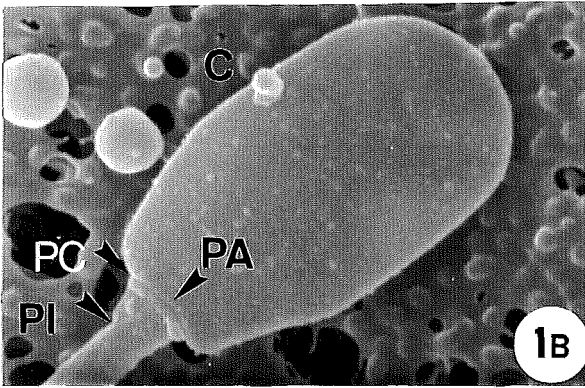
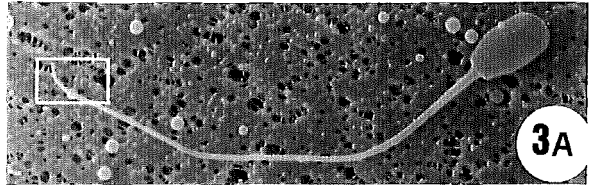
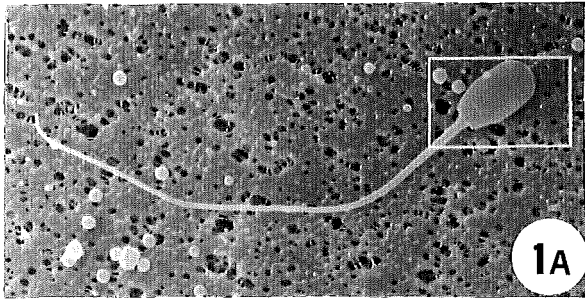
Fig. 2. A. Aspecte general d'un espermatozoide madur per la cara plana del cap. La part enquadrada és ampliada a la **figura 2B**. 1700 X.

B. Detall de la peça intermèdia (**PI**) i de la principal (**PP**) de la cua d'un espermatozoide madur. Les fletxes assenyalen el límit entre les dues peces. 17000 X.

Fig. 3. A. Aspecte general d'un espermatozoide madur per la cara plana del cap. La part enquadrada és ampliada a la **figura 3B**. 1700 X.

B. Detall de la peça principal (**PP**) i de la terminal (**PT**) de la cua d'un espermatozoide madur. Les fletxes assenyalen el límit entre les dues peces. 17000 X.

Fig. 4. Aspecte general d'un espermatozoide madur per una de les cares laterals del cap. La fletxa assenyala el límit entre el cap i la cua. El cap és pla i presenta un gruix inferior al de les peces intermèdia i principal de la cua. 5600 X.



LÀMINA VII

Figures: 1 a 4.

LÀMINA VII.

Espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 1. A. Aspecte general, per una de les dues cares laterals del cap, d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal. La part enquadrada és ampliada a la **figura 1B**. 1800 X.

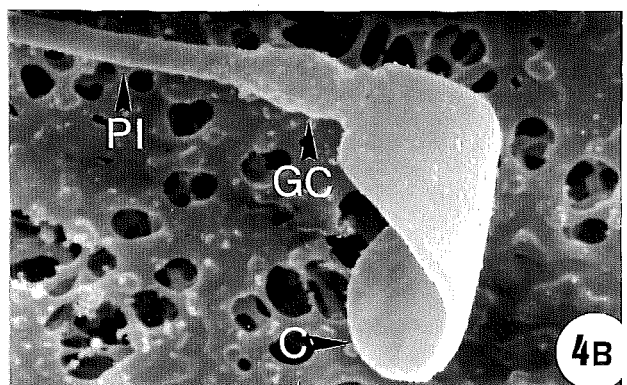
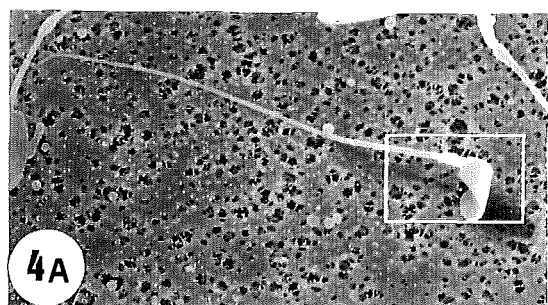
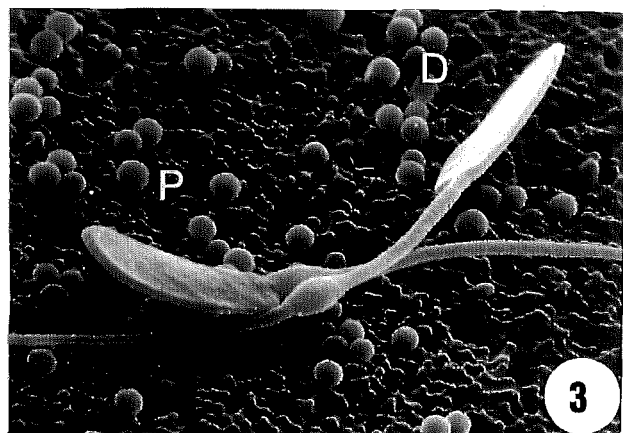
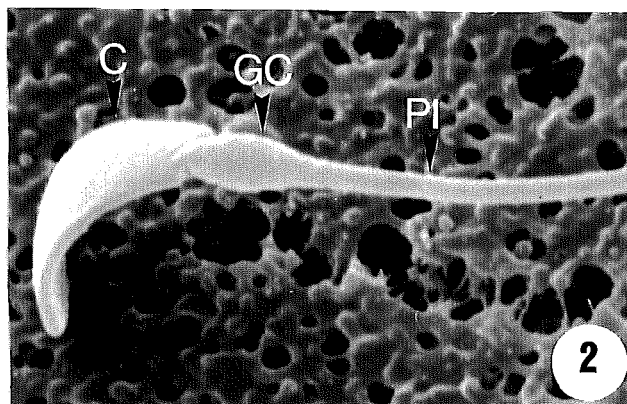
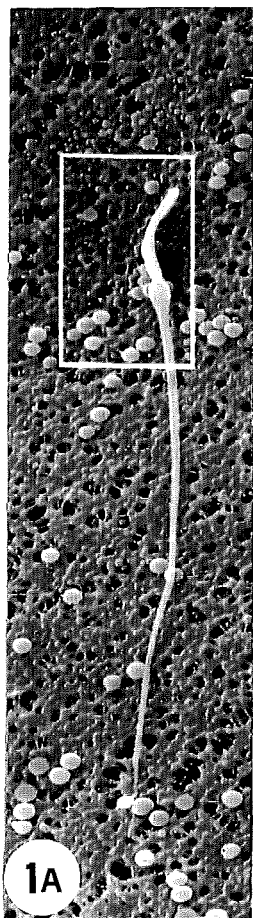
B. Detall del cap. Observeu la presència de la gota citoplasmàtica (**GC**) entre el cap (**C**) i la peça intermèdia (**PI**). El cap presenta una gran flexibilitat que li permet adoptar trajectòries curvilínies. 9400 X.

Fig. 2. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal. La trajectòria plana del cap dels espermatozoides madurs és substituïda, sovint, per una trajectòria curvilínia en els espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal. **C**, cap; **GC**, gota citoplasmàtica; **PI**, peça intermèdia. 6800 X.

Fig. 3. Aspecte de dos espermatozoides immadurs, un amb gota citoplasmàtica proximal (**P**) i l'altre amb gota citoplasmàtica distal (**D**). En aquesta ocasió ambdós caps presenten una trajectòria plana. 3300 X.

Fig. 4. A. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal. La part enquadrada és ampliada a la **figura 4B**. 1700 X.

B. Detall del cap. Hom pot observar la intensa curvatura del cap. **C**, cap; **GC**, gota citoplasmàtica; **PI**, peça intermèdia. 8500 X.



LÀMINA VIII

Figures: 1 a 6.

LÀMINA VIII.

Espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 1. Aspecte del cap d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. La protuberància acrosòmica està molt més desenvolupada que la que presenten els espermatozoides madurs. Les fletxes indiquen el límit de la protuberància acrosòmica (**PA**). **PC**, peça de connexió; **PI**, peça intermèdia. 8500 X.

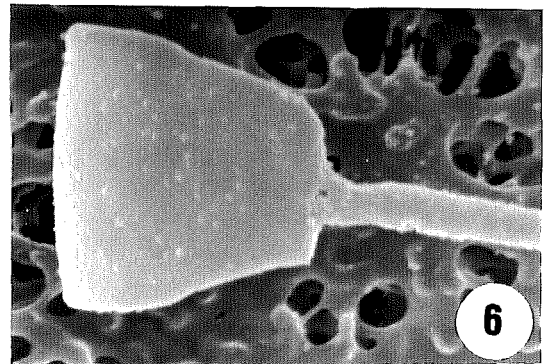
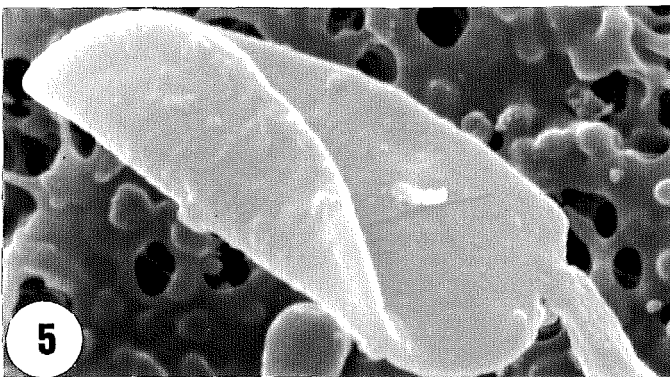
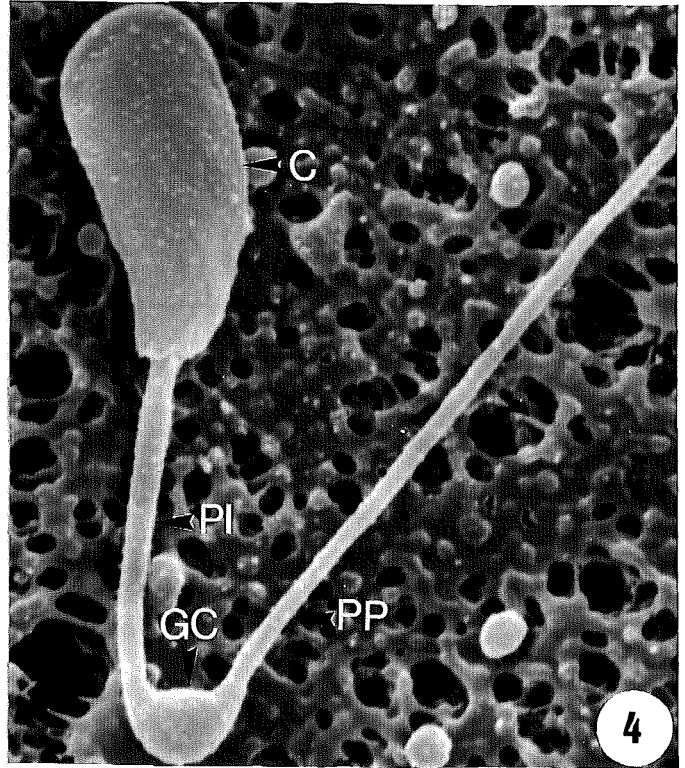
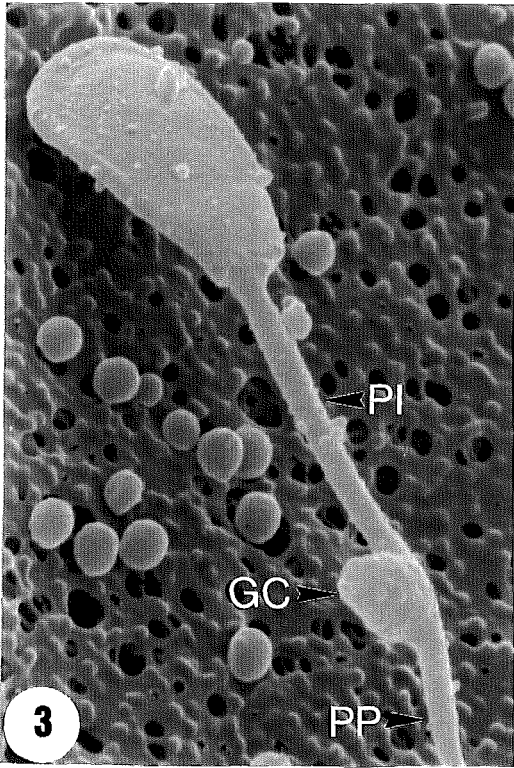
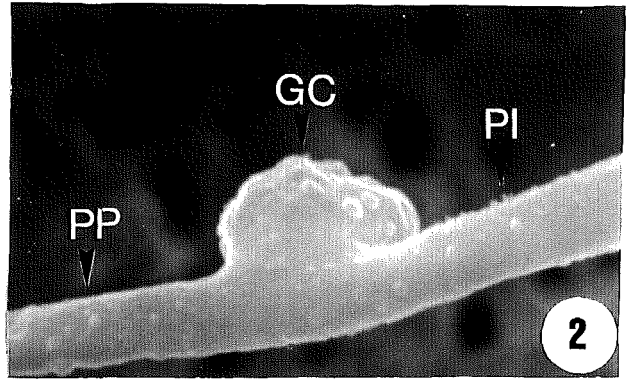
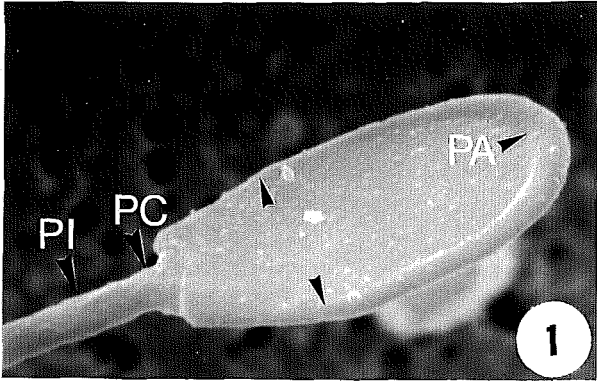
Fig. 2. Aspecte de la peça intermèdia (**PI**) i de la principal (**PP**) d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (**GC**). 17500 X.

Fig. 3. Aspecte d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. La gota citoplasmàtica (**GC**), situada entre la peça intermèdia (**PI**) i la principal (**PP**) està en la fase final del procés d'expulsió. 6000 X.

Fig. 4. Aspecte d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. La cua està parcialment doblegada al nivell de la gota citoplasmàtica (**GC**), entre la peça intermèdia (**PI**) i la peça principal (**PP**). El cap (**C**) està lleugerament corbat lateralment. 6300X.

Fig. 5. Aspecte del cap d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. El cap està doblegat per un pla longitudinal. 11000 X.

Fig. 6. Aspecte del cap d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. El cap està doblegat per un pla transversal. 11000 X.



LÀMINA IX

Figures: 1 a 7.

LÀMINA IX.

Espermatozoides aberrants: malformacions que afecten la mida o la forma del cap.
Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 1. Espermatozoide macrocefàlic (**M**) immadur amb gota citoplasmàtica distal i espermatozoide de cap normal (**N**) immadur amb gota citoplasmàtica distal. 5000 X.

Fig. 2. Espermatozoide amb el cap petit i arrodonit (**ma**) i espermatozoide amb el cap normal (**N**). 7900 X.

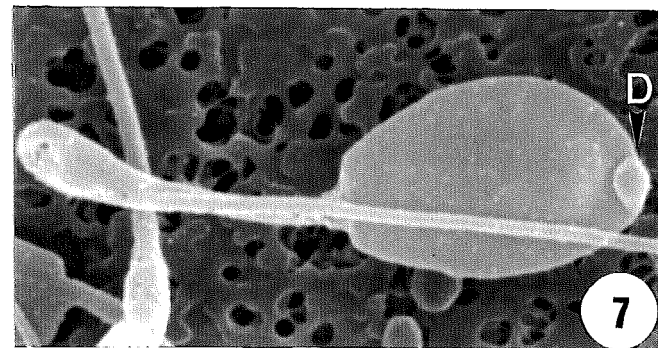
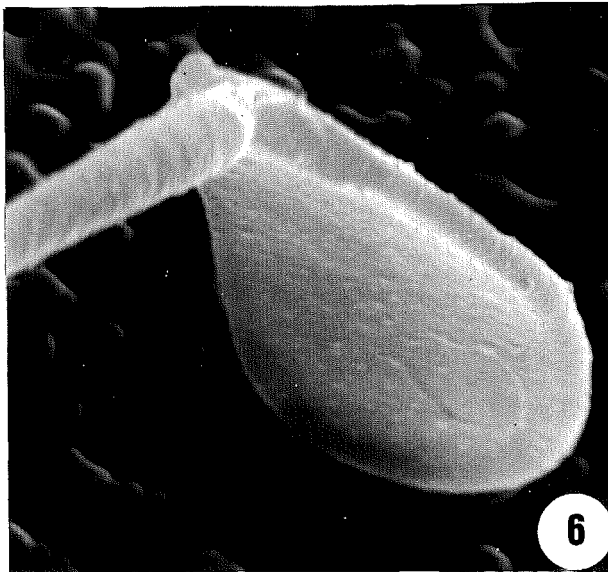
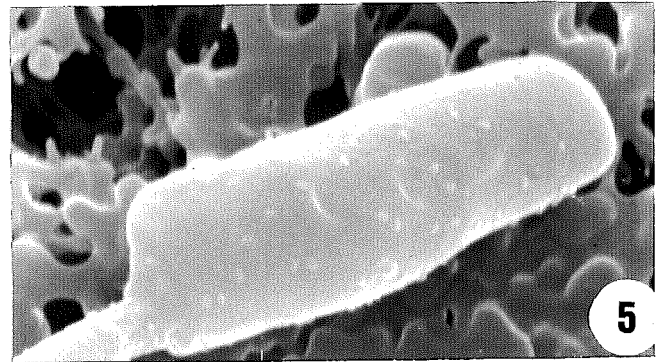
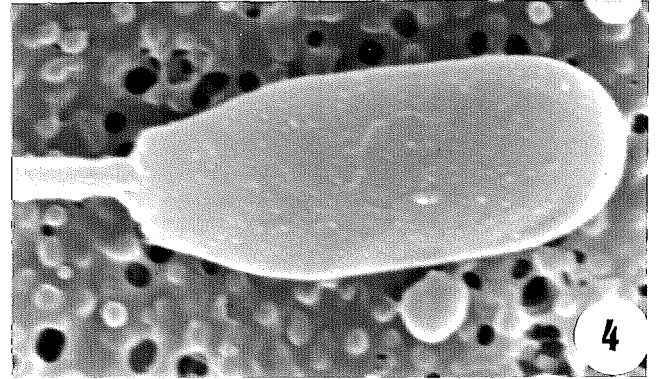
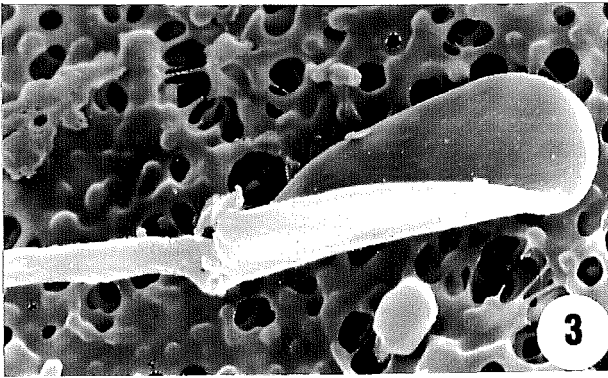
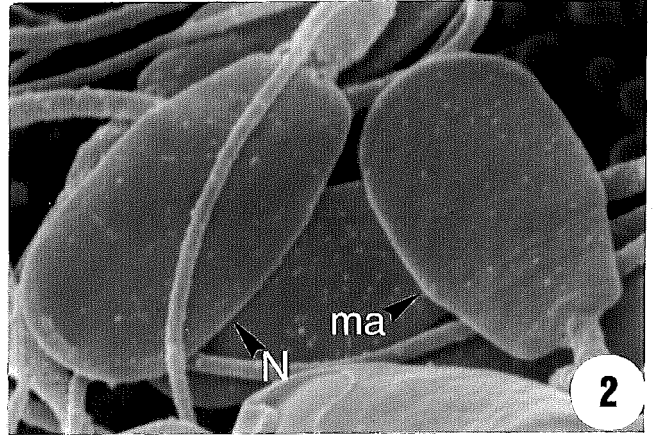
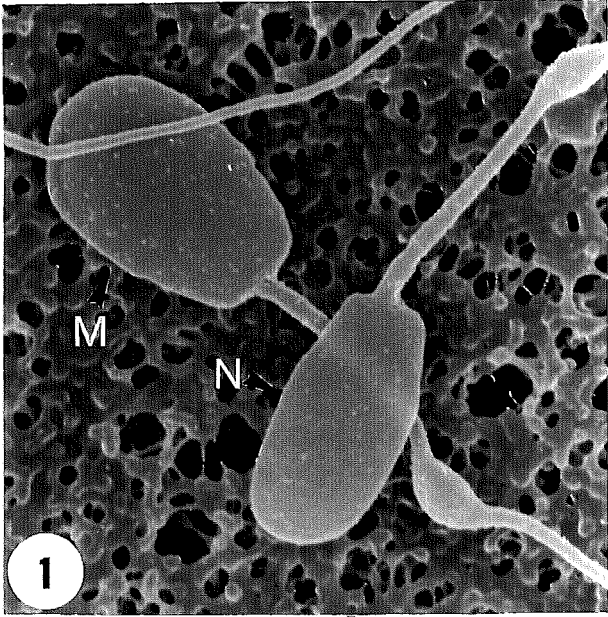
Fig. 3. Espermatozoide amb el cap doblegat per un pla longitudinal. 6500 X.

Fig. 4. Espermatozoide amb el cap estret i allargat. 8500 X.

Fig. 5. Espermatozoide amb el cap cilíndric. La implantació de la cua al cap és abaxial. 11000 X.

Fig. 6. Espermatozoide amb el cap petit i de forma irregular. La implantació de la cua és perpendicular a la cara plana del cap. 15100 X.

Fig. 7. Espermatozoide amb el cap arrodonit i la cua doblegada per l'anell de Jensen. La protuberància acrosòmica presenta una petita dilatació apical (**D**). 6000 X.



LÀMINA X

Figures: 1 a 4.

LÀMINA X.

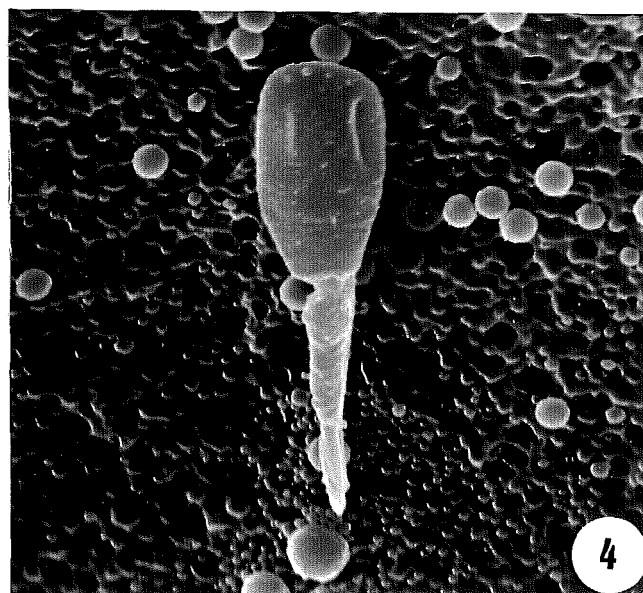
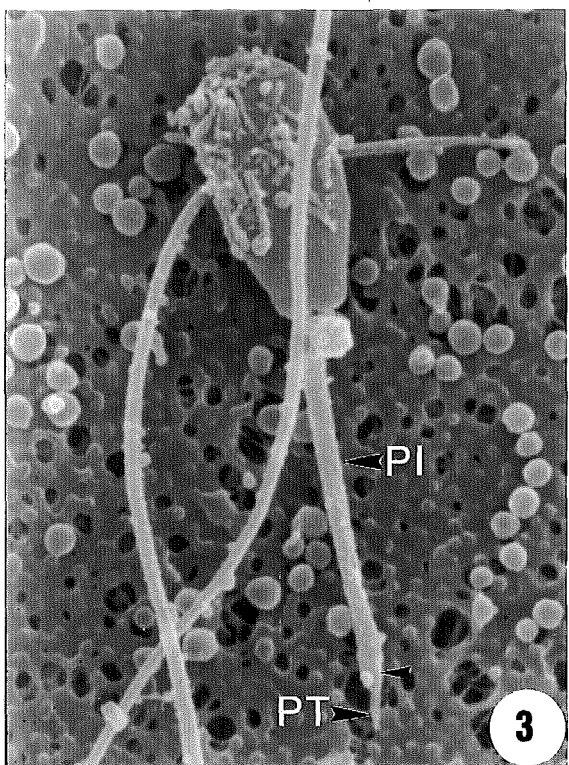
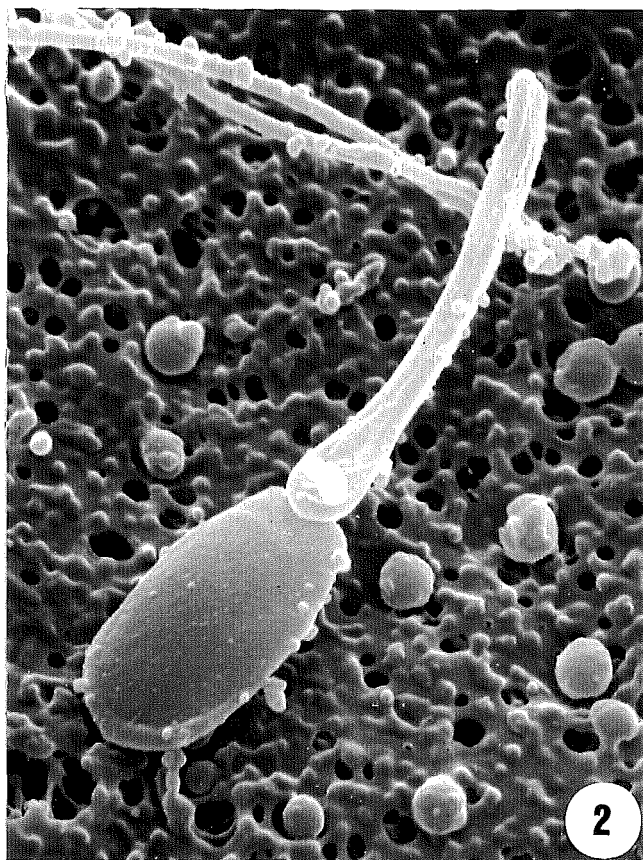
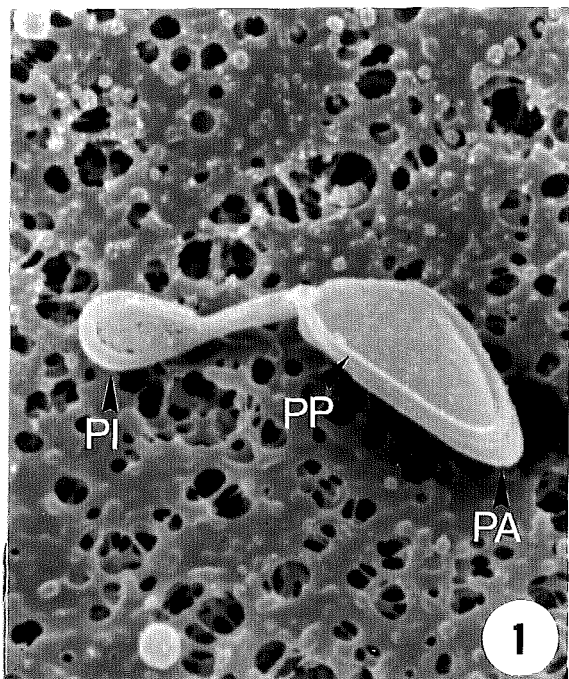
Espermatozoides aberrants: malformacions que afecten la longitud de la cua. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 1. Espermatozoide amb la cua curta i doblegada per la peça intermèdia. La peça principal (PP) es fusiona amb la peça intermèdia (PI) i, en arribar al cap, es fusiona amb la depressió que marca la protuberància acrosòmica (PA). El cap té forma triangular. 5000 X.

Fig. 2. Espermatozoide amb la cua curta. La peça principal i la terminal s'enrotllen a l'entorn de la peça intermèdia. 6000 X.

Fig. 3. Espermatozoide amb la cua curta. La cua només presenta dues peces, la intermèdia (PI) i la terminal (PT). La peça intermèdia presenta una longitud i diàmetre normals, la peça principal és absent i la peça terminal és curta. 5000 X.

Fig. 4. Espermatozoide amb la cua curta. La cua només presenta una única peça, la intermèdia, que és més curta i més gruixuda que la peça intermèdia d'un espermatozoide madur normal. 4500 X.



LÀMINA XI

Figures: 1, 2 i 3.

LÀMINA XI.

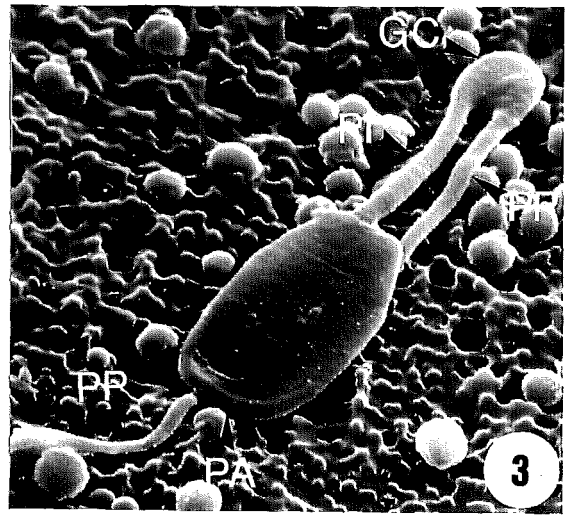
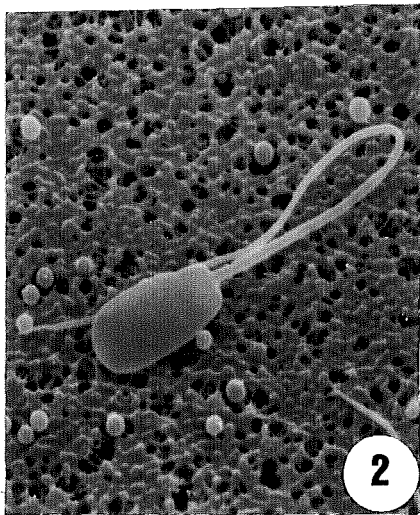
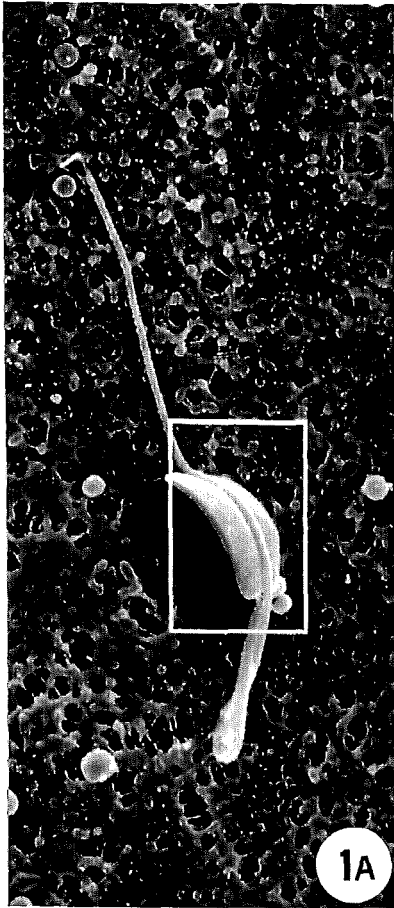
Espermatozoides aberrants: malformacions per doblegament de la cua al nivell de l'anell de Jensen. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 1. A. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen, és a dir, per la zona limit ente la peça intermèdia i la principal. La peça principal es fusiona amb la peça intermèdia i amb el cap. La part enquadrada és ampliada a la **figura 1B**. 3100 X.

B. Detall del cap d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. Observeu que la peça principal (**PP**) es fusiona amb la cara plana del cap (**C**). 15500 X.

Fig. 2. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada pel primer terç de la peça principal. Noteu l'absència de la gota citoplasmàtica. No es tracta d'una malformació, sinó d'una flexió normal de la cua totalment reversible. 2500 X.

Fig. 3. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. Hom pot observar que la gota citoplasmàtica (**GC**) cementa la curvatura de la cua entre la peça intermèdia (**PI**) i la peça principal (**PP**). La peça principal es fusiona amb la cara plana del cap. **PA**, protuberància acrosòmica. 4300 X.



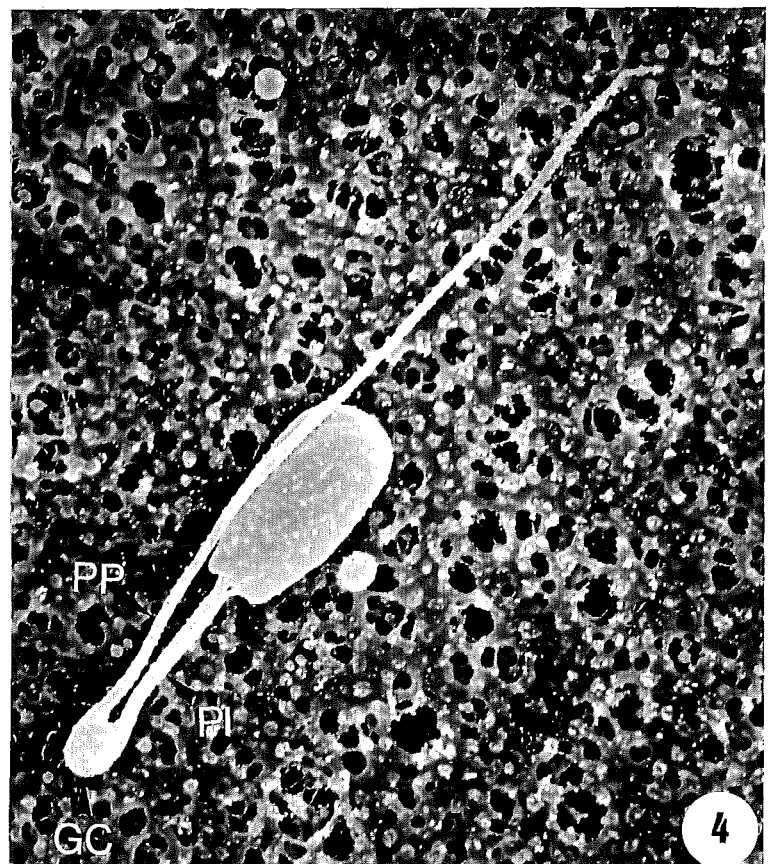
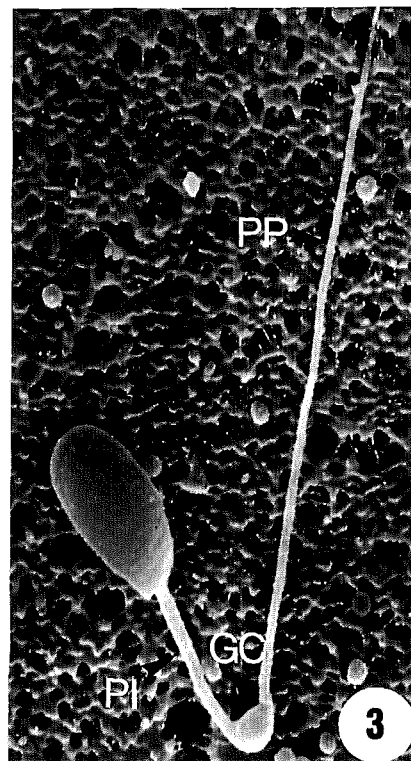
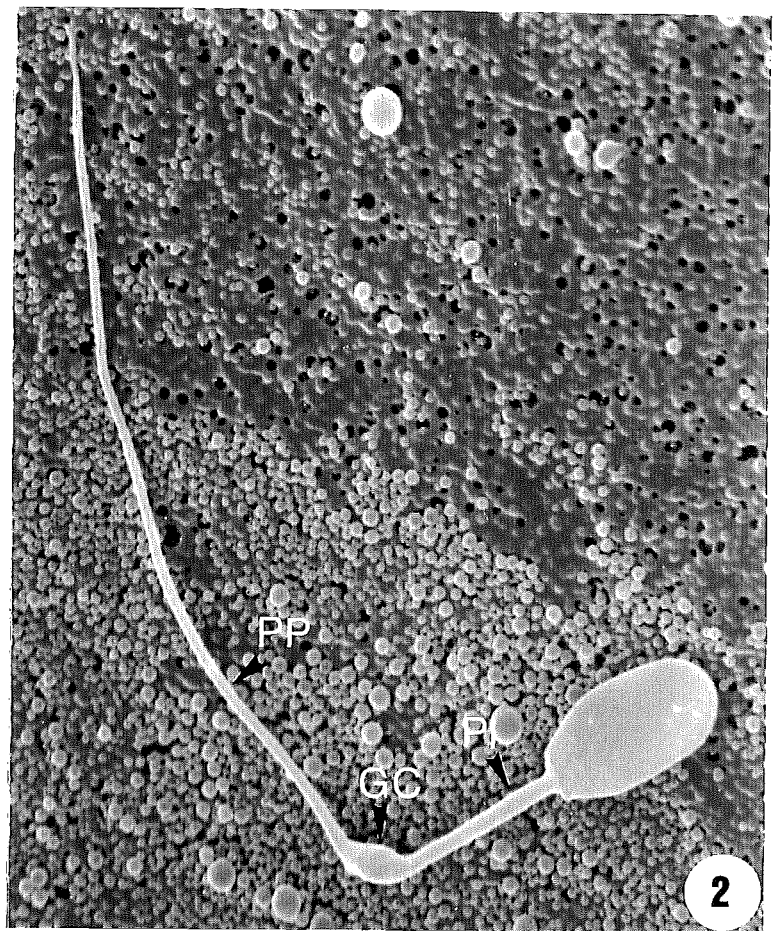
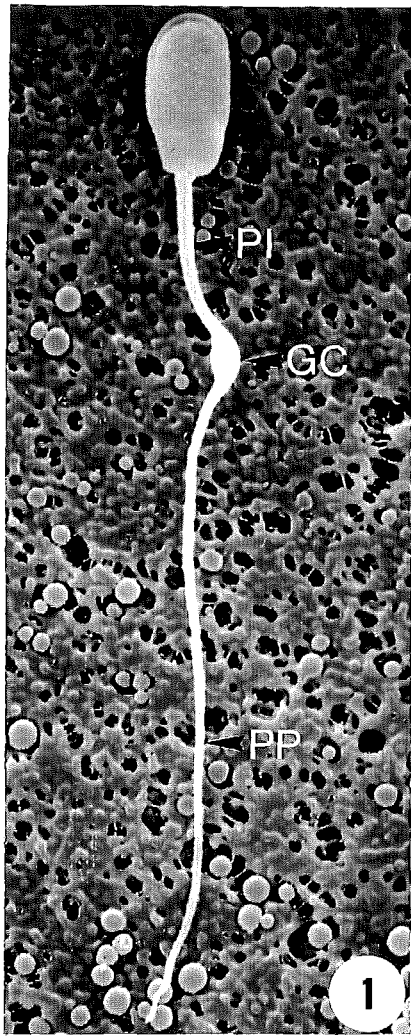
LÀMINA XII

Figures: 1 a 4.

LÀMINA XII.

Espermatozoides aberrants: etapes del doblegament de la cua per l'anell de Jensen. Microscòpia electrònica d'escànnig.

- Fig. 1.** Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. Al nivell de la gota citoplasmàtica (GC), la cua inicia una lleugera curvatura. **PI**, peça intermèdia; **PP**, peça principal. 3100 X.
- Fig. 2.** Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (GC). L'angle format entre la peça intermèdia (**PI**) i la principal (**PP**) és d'uns 90°. Aquesta curvatura encara és reversible. 3500 X.
- Fig. 3.** Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (GC). L'angle format entre la peça intermèdia (**PI**) i la principal (**PP**) és d'uns 45°. 3100 X.
- Fig. 4.** Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (GC). L'angle format entre la peça intermèdia (**PI**) i la principal (**PP**) és d'uns 0°. El doblegament de la cua queda cimentat per la gota citoplasmàtica. En la micrografia es pot observar que la peça principal encara no s'ha fusionat amb la peça intermèdia i amb el cap. Aquesta fusió es realitzarà en una fase posterior. 4200 X.



LÀMINA XIII

Figures: 1 a 5.

LÀMINA XIII.

Espermatozoides aberrants: malformacions per enrotllament de la cua.
Microscòpia electrònica d'escànnig.

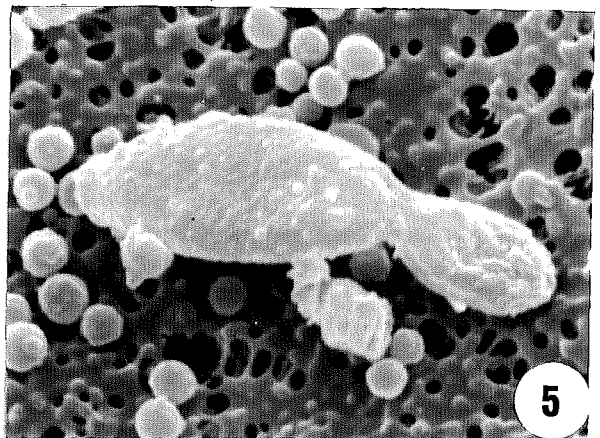
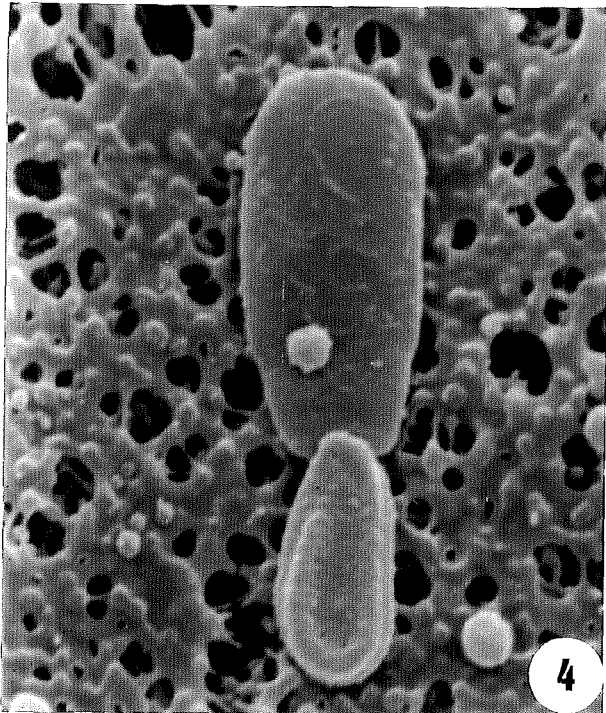
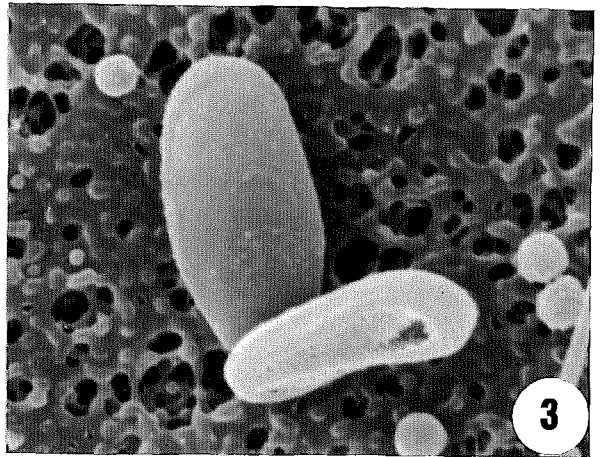
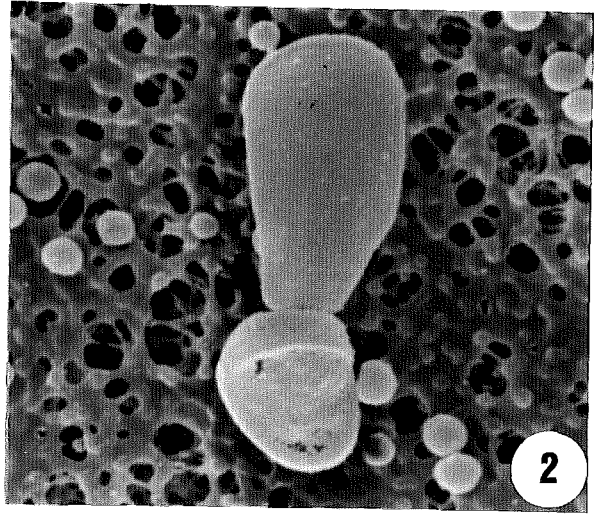
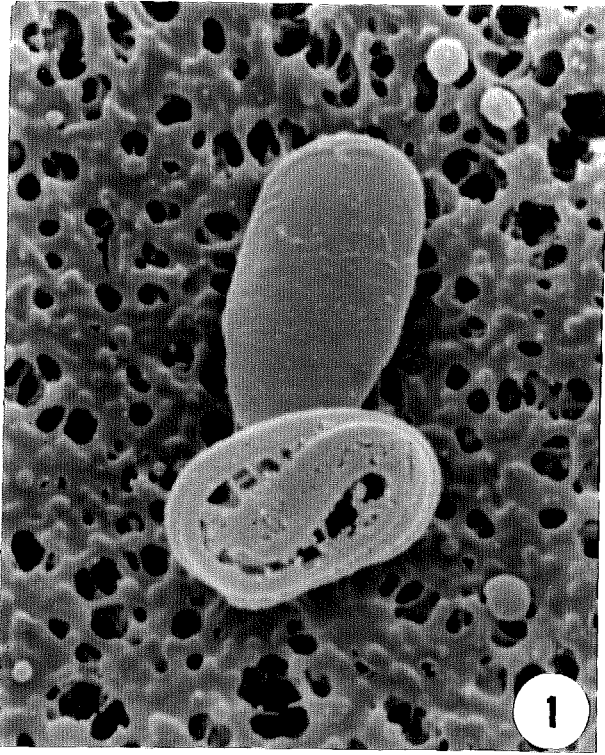
Fig. 1. Espermatozoide amb la cua enrotllada. La cua, amb totes les seves peces, s'enrotlla sobre si mateixa en un pla paral·lel a la cara plana del cap. 6700 X.

Fig. 2. Espermatozoide amb la cua enrotllada i el cap petit i lleugerament deformat. Vist el poc desenvolupament de l'enrotllament, és possible que a la cua li falti alguna de les seves peces. L'enrotllament es disposa en un pla paral·lel a la cara plana del cap. 6000 X.

Fig. 3. Espermatozoide amb la cua enrotllada i el cap petit i oval. La cua, amb totes les seves peces, s'enrotlla sobre si mateixa en un pla perpendicular a la cara plana del cap. 6000 X.

Fig. 4. Espermatozoide amb la cua enrotllada i el cap allargat. A la cua, vist el poc desenvolupament de l'enrotllament, és possible que li manqui alguna de les seves peces. L'enrotllament es disposa en un pla paral·lel a la cara plana del cap. 6500 X.

Fig. 5. Espermatozoide amb la cua enrotllada i el cap petit i el·líptic. L'enrotllament de la cua es disposa en un pla paral·lel a la cara plana del cap. 6000 X.



LÀMINA XIV

Figures: 1 a 4.

LÀMINA XIV.

Espermatozoides aberrants: malformacions que afecten el nombre de cues.
Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 1. A. Aspecte general d'un espermatozoide amb dues cues d'igual longitud i completament fusionades. La part enquadrada és amplada a la **figura 1B**. 1700 X.

B. Regió d'ancoratge de les dues cues. **C**, cua; **RC**, restes citoplasmàtiques de la gota en posició proximal. 8500 X.

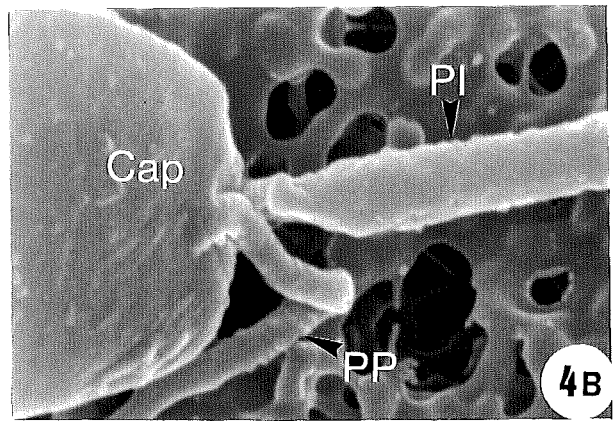
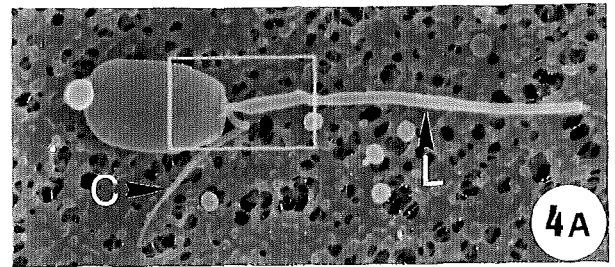
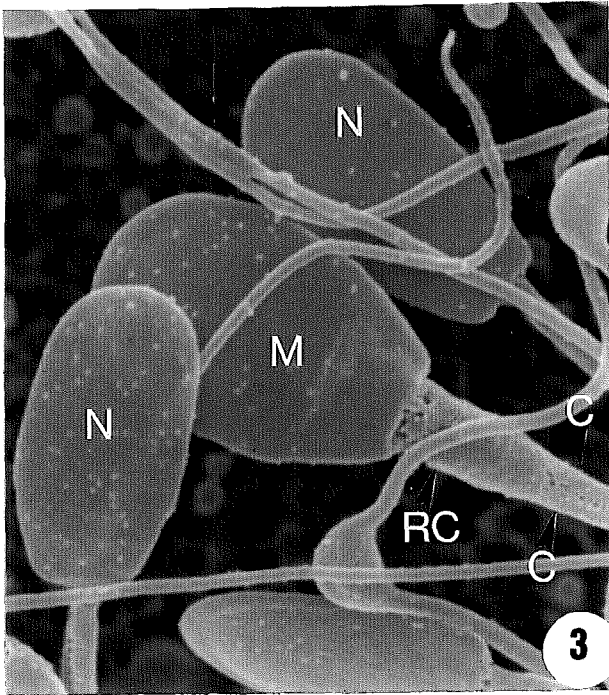
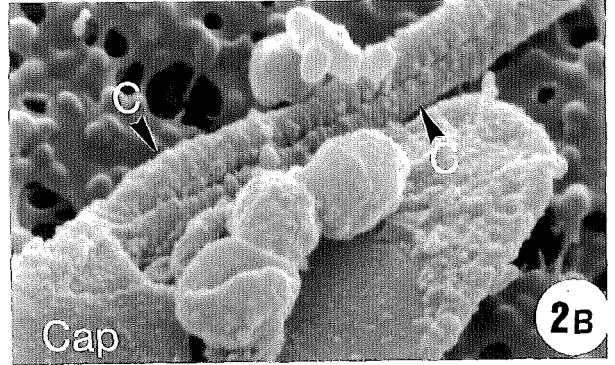
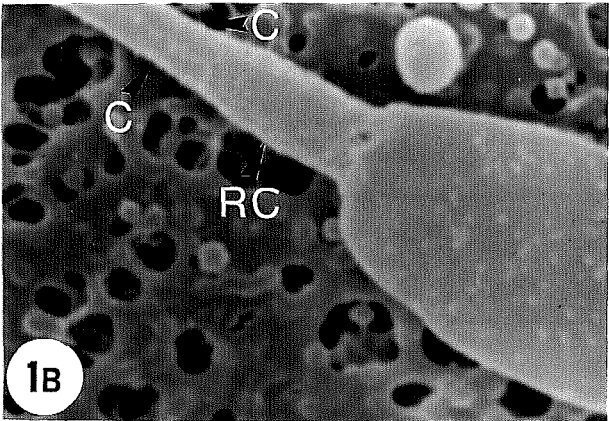
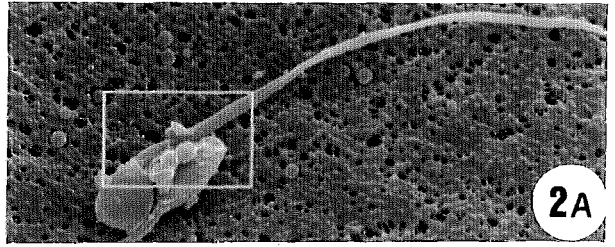
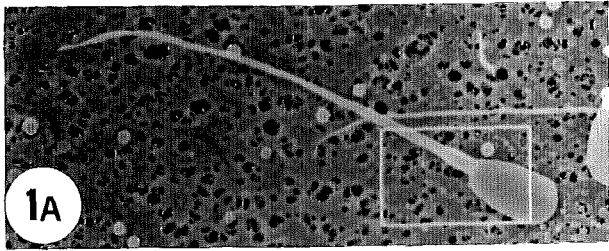
Fig. 2. A. Aspecte general d'un espermatozoide microcefàlic amb dues cues d'igual longitud i completament fusionades. La part enquadrada és amplada a la **figura 2B**. 1700 X.

B. Regió d'ancoratge de les dues cues. El punt d'ancoratge de les dues cues està desplaçat a un costat de la base del cap. **C**, cua. 8500 X.

Fig. 3. Espermatozoide macrocefàlic amb dues cues d'igual longitud i completament fusionades. **C**, cua; **M**, cap macrocefàlic; **N**, cap normal; **RC**, restes citoplasmàtiques de la gota en posició proximal. 6000 X.

Fig. 4. A. Aspecte general d'un espermatozoide amb dues cues de longitud diferent i no fusionades. La cua més llarga (**L**) està formada únicament per una peça intermèdia de gran longitud. L'altra cua (**C**) està formada per una peça terminal i una peça principal molt curta. La part enquadrada és amplada a la **figura 4B**. 3000 X.

B. Regió d'ancoratge de les dues cues. **PI**, peça intermèdia de la cua llarga; **PP**, peça principal de la cua curta. 15000 X.



LÀMINA XV

Figures: 1 a 4.

**LÀMINA XV.**

Espermatozoides aberrants: malformacions que afecten el nombre de caps i l'enrotllament i/o fusió de les cues. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 1. Espermatozoide amb dos caps i dues cues completament enrotllades. L'enrotllament de les cues es fa en un pla paral·lel al de les dues cares planes dels caps. 6000 X.

Fig. 2. A. Aspecte general d'un espermatozoide amb dos caps i dues cues fusionades. La part enquadrada és amplada a la **figura 2B**. **RC**, restes citoplasmàtiques de la gota en posició proximal. 2000 X.

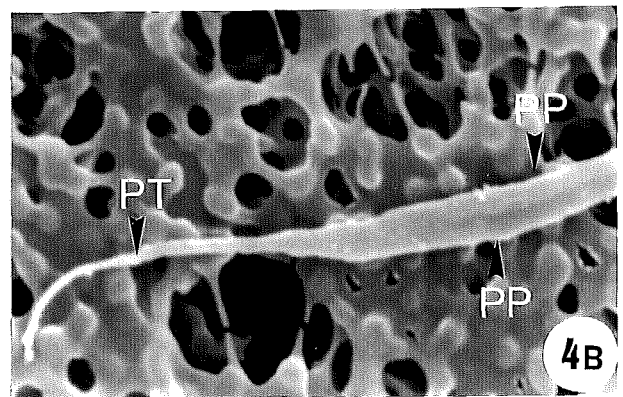
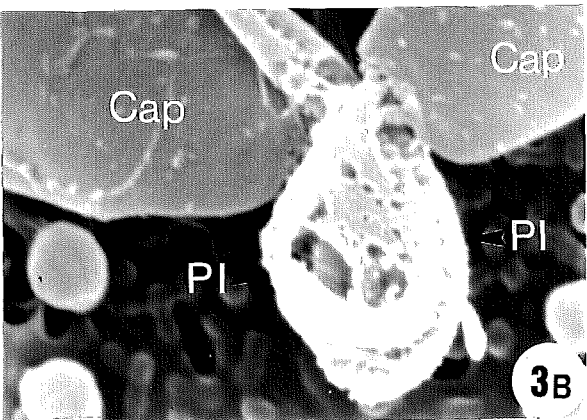
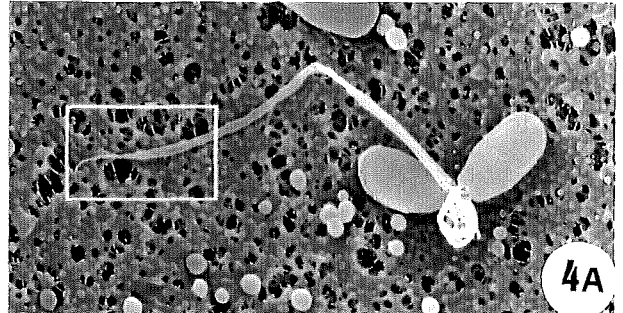
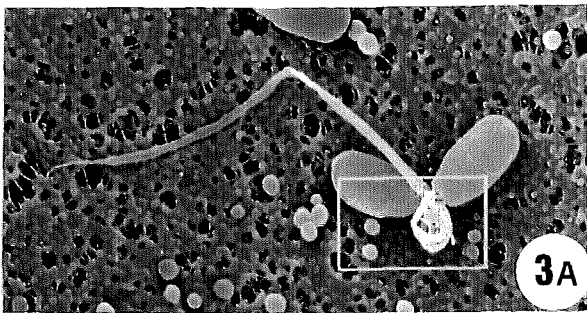
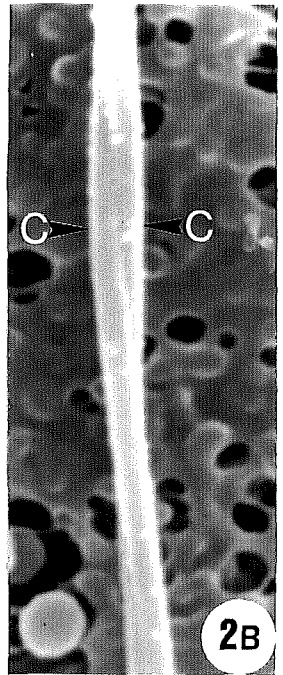
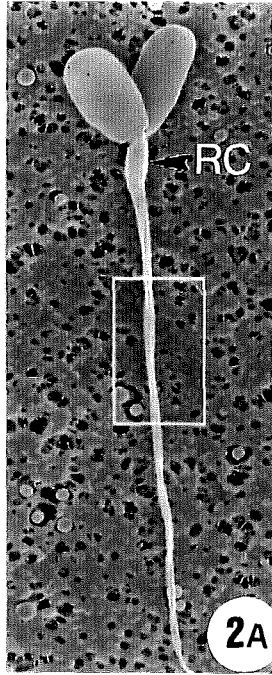
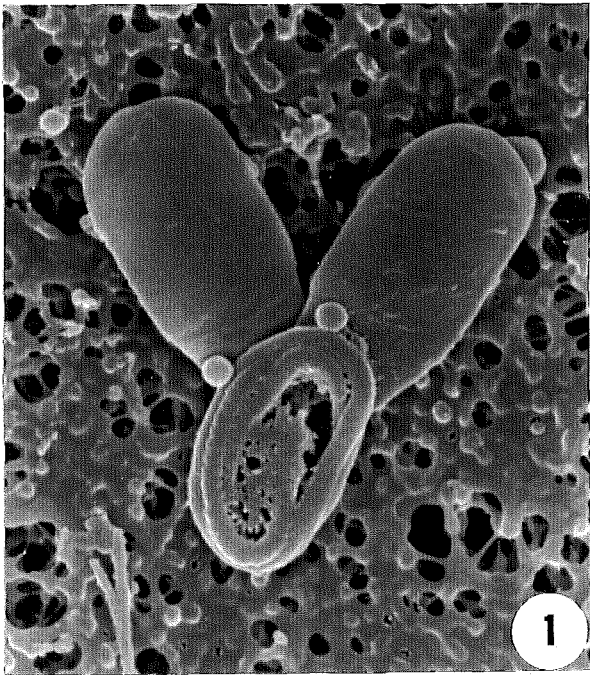
B. Detall de les dues peces principals fusionades. Observeu la trajectòria helicoidal de les cues (**C**). 10000 X.

Fig. 3. A. Aspecte general d'un espermatozoide amb dos caps i dues cues fusionades i parcialment enrotllades. La part enquadrada és amplada a la **figura 3B**. 2000 X.

B. L'enrotllament de la cua s'inicia per la porció proximal i afecta, en primer lloc, les dues peces intermèdies. **PI**, peça intermèdia. 10000 X.

Fig. 4. A. Aspecte general d'un espermatozoide amb dos caps i dues cues fusionades i parcialment enrotllades. La part enquadrada és amplada a la **figura 4B**. 2000 X.

B. Detall de la peça terminal (**PT**) i de les dues peces principals (**PP**) fusionades. 10000 X.



LÀMINA XVI

Figures: 1 a 4.

LÀMINA XVI.

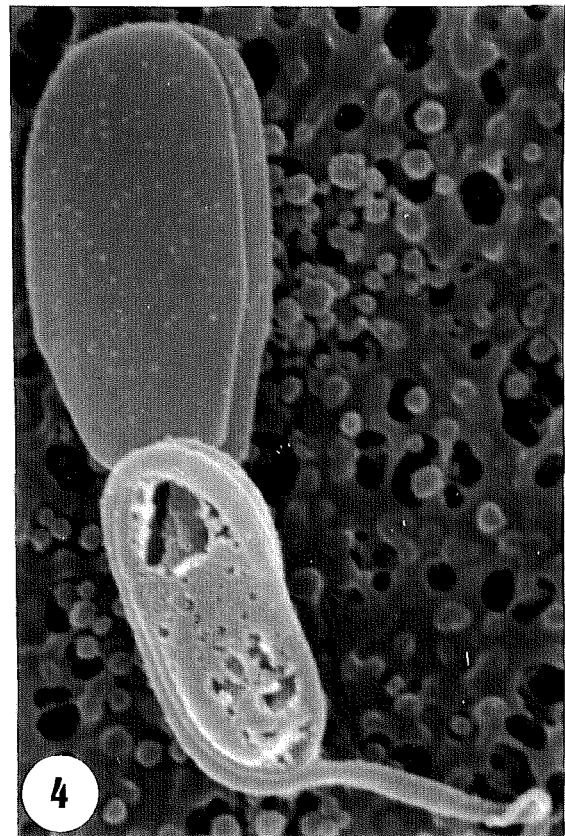
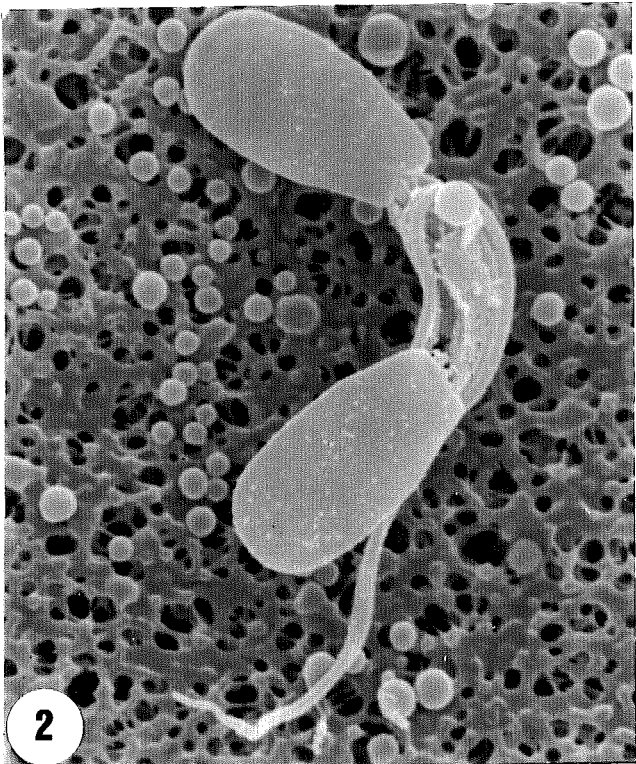
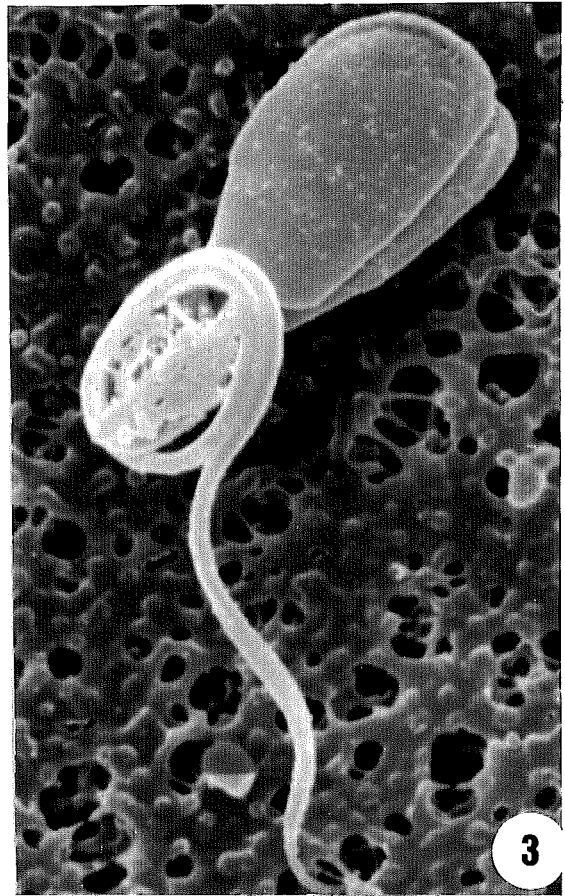
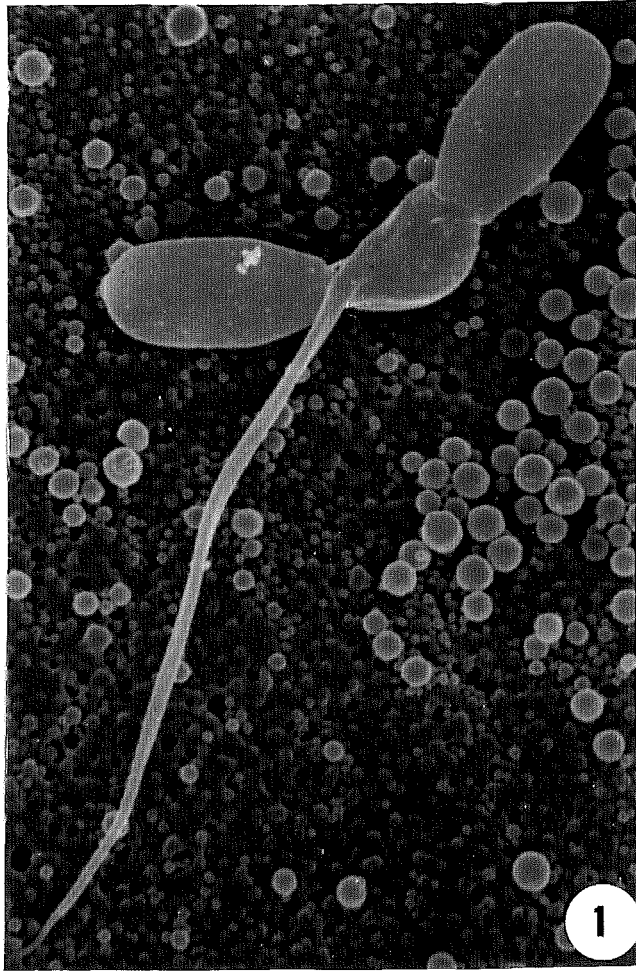
Espermatozoides aberrants: diversos estadis de l'enrotllament de la cua en espermatozoides amb dos caps. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 1. Espermatozoide amb dos caps i dues cues fusionades i parcialment enrotllades. En aquest estadi, els caps estan allunyats i l'enrotllament de la cua només afecta les peces intermèdies. 4000 X.

Fig. 2. Espermatozoide amb dos caps i dues cues fusionades i parcialment enrotllades. Els caps es mantenen allunyats, però l'enrotllament de la cua afecta les peces intermèdies i dues terceres parts de les peces principals. 5000 X.

Fig. 3. Espermatozoide amb dos caps i dues cues fusionades i parcialment enrotllades. Els caps s'apropen fins a superposar-se i l'enrotllament de la cua segueix afectant les peces intermèdies i bona part de les peces principals. 6800 X.

Fig. 4. Espermatozoide amb dos caps i dues cues fusionades i parcialment enrotllades. Els caps es superposen i l'enrotllament de la cua afecta la totalitat de les peces intermèdies i de les peces principals. 8200 X.



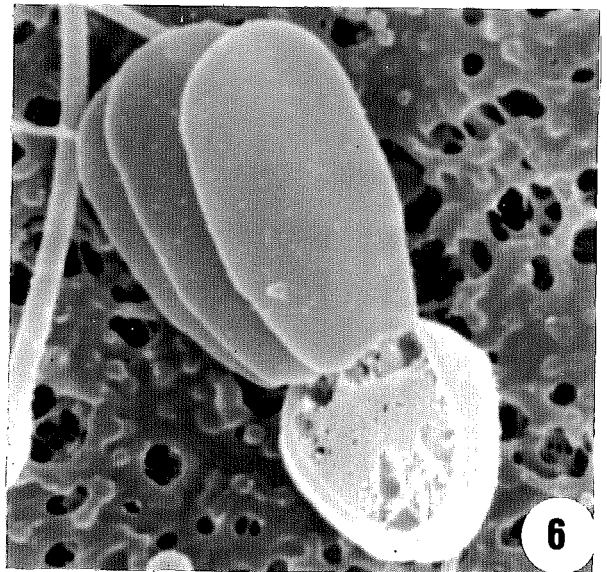
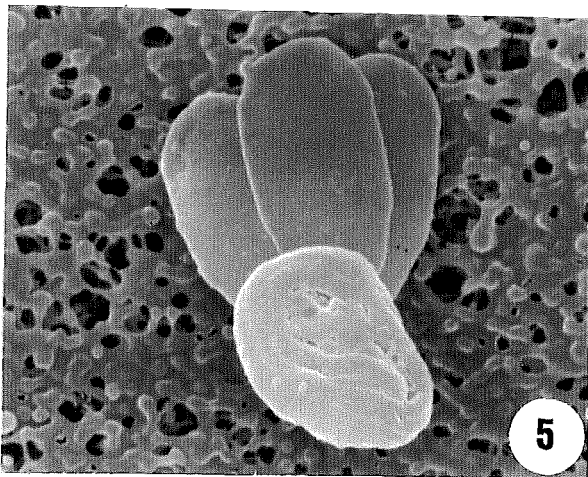
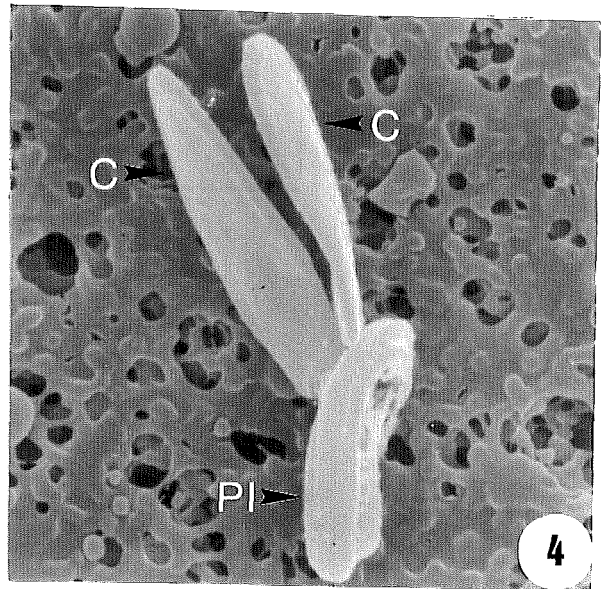
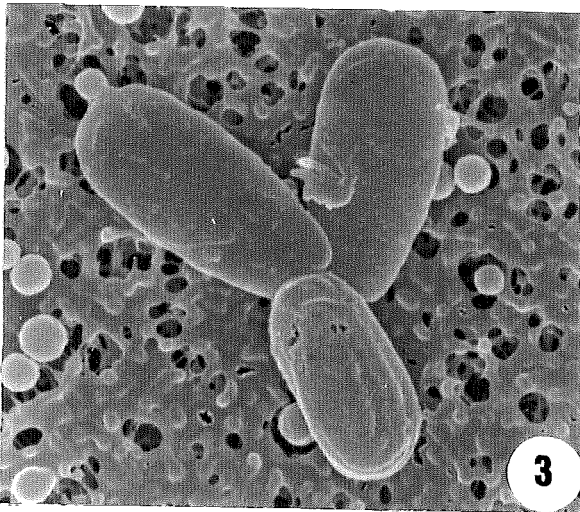
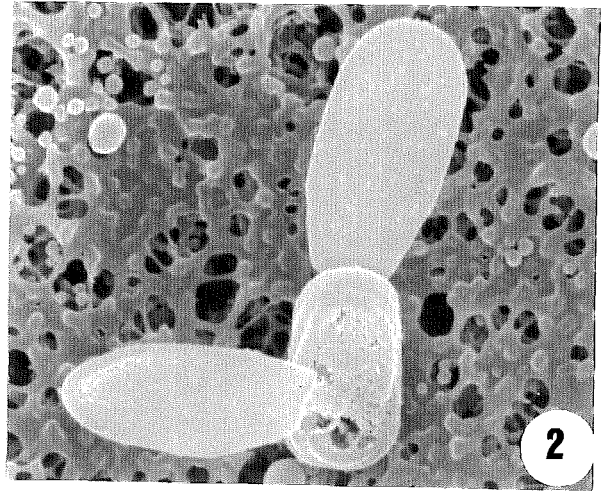
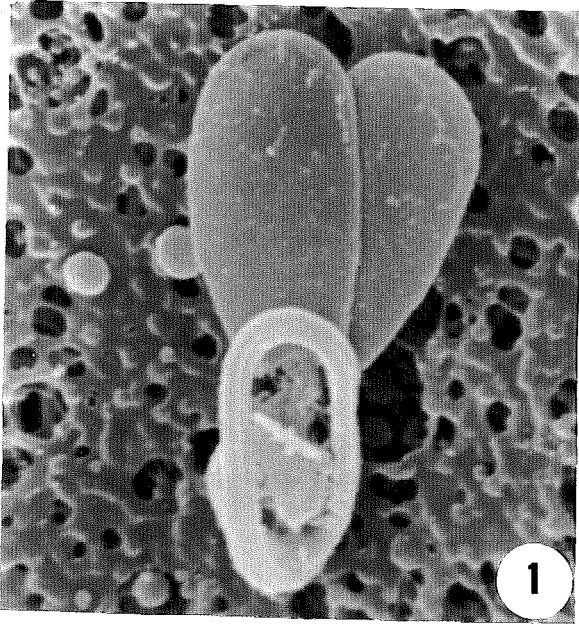
LÀMINA XVII

Figures: 1 a 6.

LÀMINA XVII.

Espermatozoides aberrants: malformacions que afecten el nombre de caps i l'enrotllament total de la cua. Microscòpia electrònica d'escànnig.

- Fig. 1.** Espermatozoide amb dos caps i cua enrotllada. Els caps es superposen i l'enrotllament de la cua es disposa en un pla paral·lel al dels dos caps. 7000 X.
- Fig. 2.** Espermatozoide amb dos caps i cua enrotllada. Els caps es disposen allunyats l'un de l'altre i en angle recte. L'enrotllament es disposa formant un cilindre perpendicular a un dels dos caps. 5000 X.
- Fig. 3.** Espermatozoide amb dos caps i cua enrotllada. Els caps, coparal·lels, estan separats per un angle d'uns 45°. 5000 X.
- Fig. 4.** Perspectiva lateral d'un espermatozoide amb dos caps i cua enrotllada. Hom pot observar la disposició coparal·lela i superposada dels caps. **C**, cap; **PI**, peça intermèdia. 7000 X.
- Fig. 5.** Espermatozoide amb tres caps i cua enrotllada. Els caps estan superposats i l'enrotllament de la cua es disposa en un pla paral·lel al dels tres caps. 5000 X.
- Fig. 6.** Espermatozoide amb tres caps i cua enrotllada. L'escàs desenvolupament de la cua fa suposar que en la constitució de la cua hi falti alguna de les seves peces. 7000 X.



LÀMINA XVIII

Figures: 1 i 2.

LÀMINA XVIII.

Espermatozoides aberrants: malformacions per aglutinació espermàtica. Microscòpia electrònica d'escànnig.

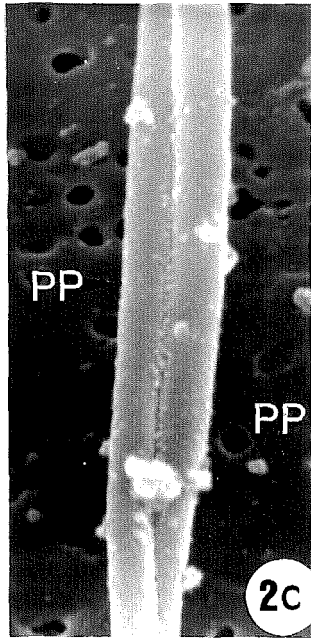
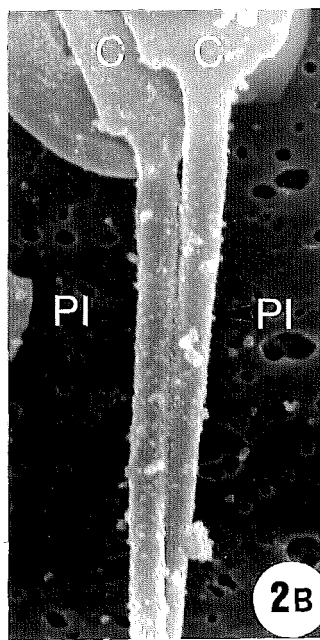
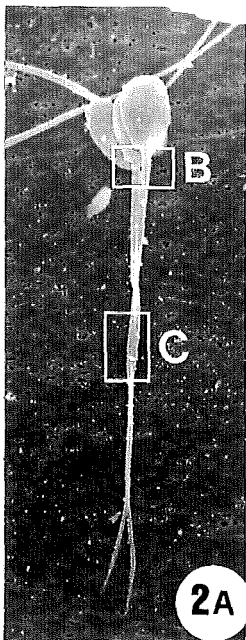
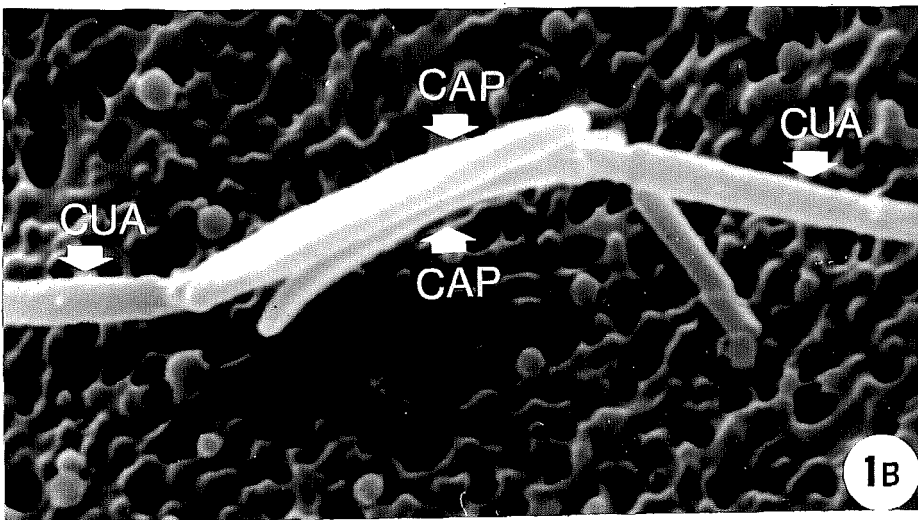
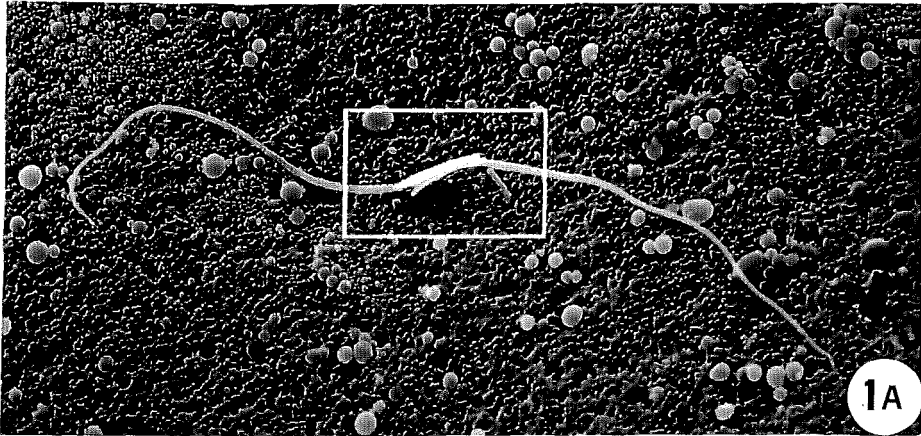
Fig. 1. A. Aspecte general de dos espermatozoides aglutinats cap amb cap. La part enquadrada és amplificada a la **figura 1B**. 1700 X.

B. Detall de l'aglutinació dels caps per ambdues cares planes. 8500 X.

Fig. 2. A. Aspecte general de dos espermatozoides aglutinats cua amb cua. Les parts enquadrades són amplifiades a les **figures 2B i 2C**. 1700 X.

B. Detall de les regions postacrosòmiques i de les dues peces intermèdies. Observeu que l'aglutinació s'inicia entre les dues peces intermèdies. **C**, cap; **PI**, peça intermèdia. 8500 X.

C. Detall de l'aglutinació de les dues peces principals (**PP**). Observeu la trajectòria lleugerament helicoidal d'ambdues cues. 17000 X.



LÀMINA XIX

Figures: 1 a 4.

LÀMINA XIX.

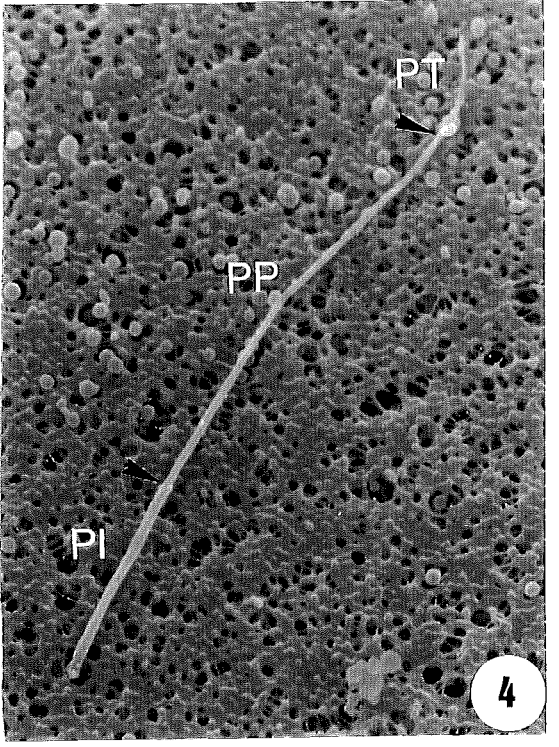
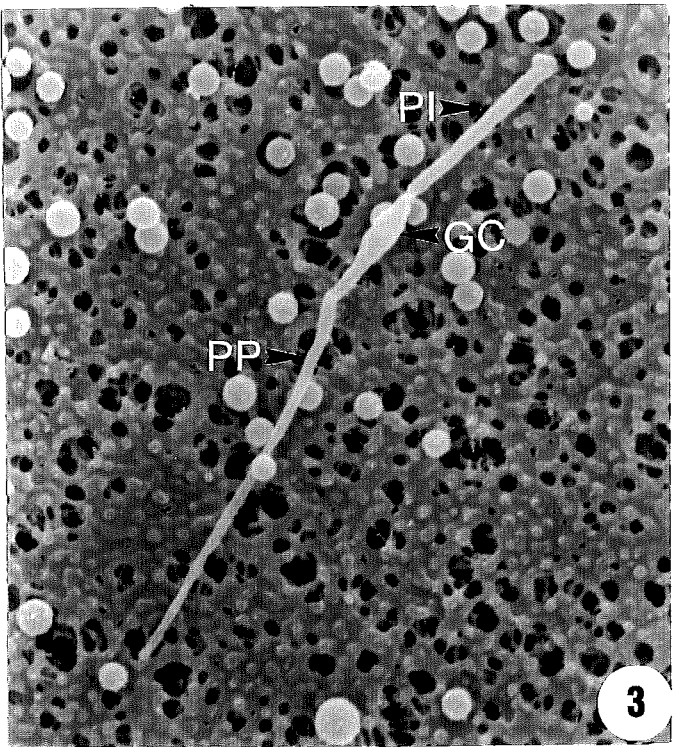
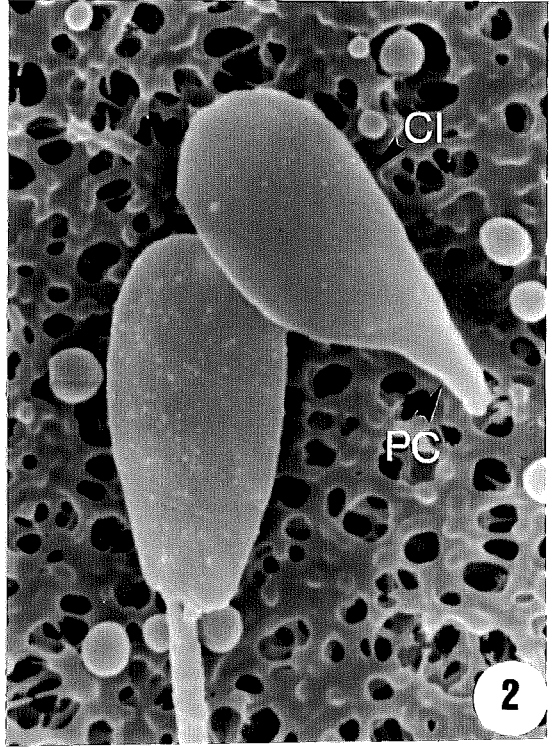
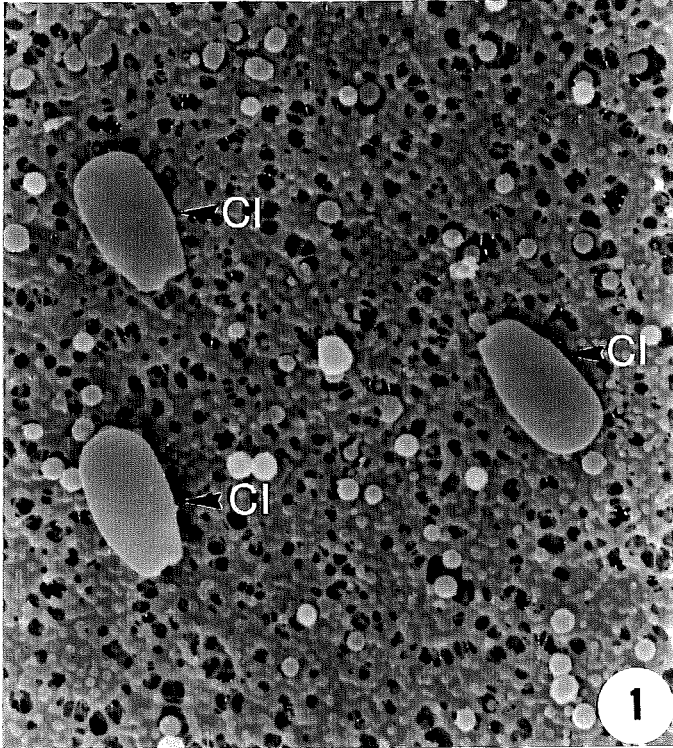
Espermatozoides aberrants: malformacions per despreniment de caps o trencament de cues. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 1. Caps despresos de les cues. Observeu que la cua s'ha trencat per la base del cap, és a dir, entre el cap i la peça de connexió. **CI**, cap isolat. 3000 X.

Fig. 2. Cap després de la cua. Observeu que la cua s'ha trencat entre la peça de connexió i la peça intermèdia. El cap isolat és més petit que el cap de l'espermatozoide adjacent. **CI**, cap isolat; **PC**, peça de connexió. 6700 X.

Fig. 3. Cua despresa del cap. La cua prové d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. **GC**, gota citoplasmàtica; **PI**, peça intermèdia; **PP**, peça principal. 4000 X.

Fig. 4. Cua despresa del cap. La cua prové d'un espermatozoide madur. Les fletxes assenyalen els límits entre la peça intermèdia (**PI**), la principal (**PP**) i la terminal (**PT**). 3500 X.



LÀMINA XX

Figures: 1, 2 i 3.

LÀMINA XX.

Cèl.lules somàtiques i figures de fagocitosi. Microscòpia electrònica d'escànnig.

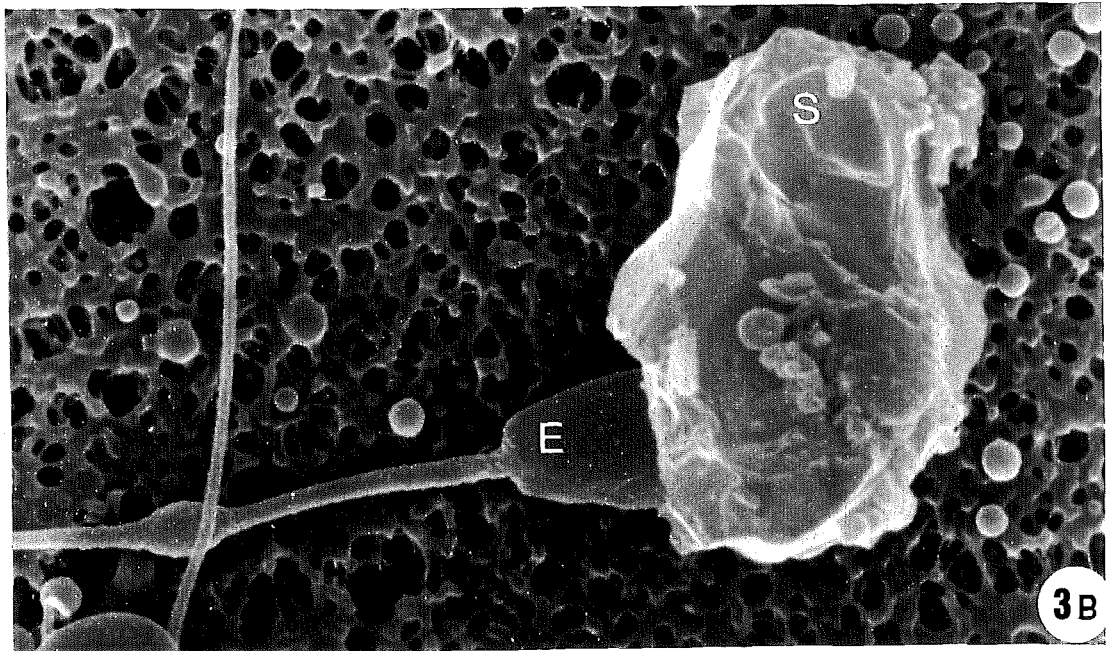
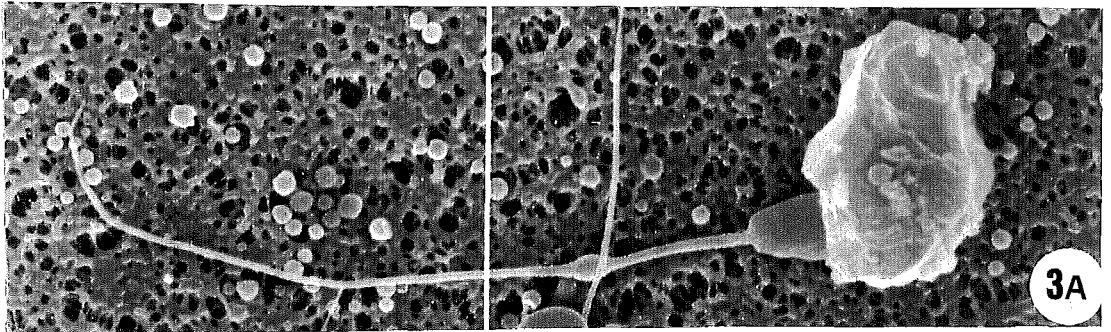
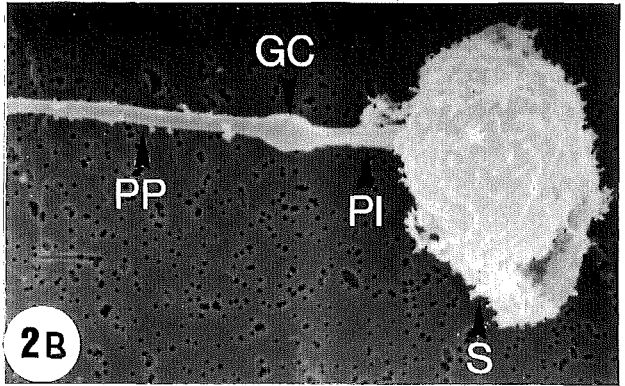
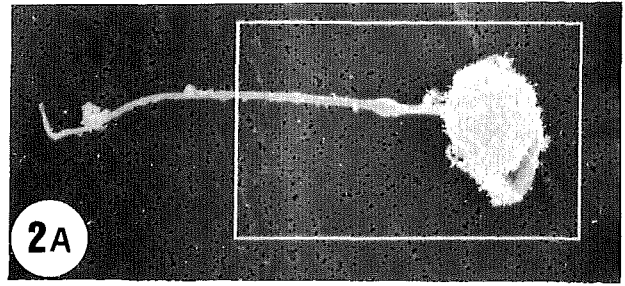
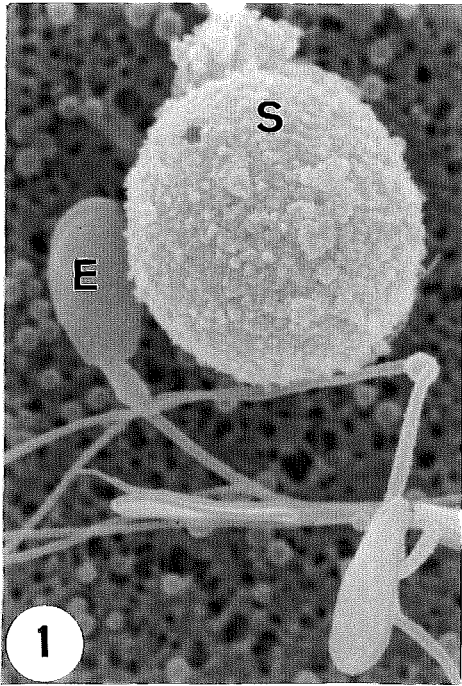
Fig. 1. Aspecte general d'una cèl.lula somàtica de l'ejaculat. **E**, espermatozoide; **S**, cèl.lula somàtica. 3500 X.

Fig. 2. A. Aspecte general d'un espermatozoide immadur englobat per una cèl.lula somàtica. La part enquadrada és ampliada a la **figura 2B**. 1500 X.

B. Detall de la cèl.lula somàtica (**S**) fagocitant l'espermatozoide immadur pel cap. **GC**, gota citoplasmàtica; **PI**, peça intermèdia; **PP**, peça principal. 3000 X.

Fig. 3. A. Aspecte general d'una cèl.lula somàtica iniciant la fagocitosi del cap d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. La part enquadrada és ampliada a la **figura 3B**. 2800 X.

B. La cèl.lula somàtica (**S**) va cobrint la regió acrosòmica del cap de l'espermatozoide (**E**). 5600 X.



LÀMINA XXI

Figures: A a L.

LÀMINA XXI.

Seccions transversals d'espermatozoides madurs. Microscòpia electrònica d'escànnning (5800 X) i de transmissió.

Fig. A. *Cap. Regió acrosòmica. Segment principal.*

MF, material fibrós perinuclear; **N**, nucli; **SP**, segment principal de la vesícula acrosòmica. 51000 X.

Fig. B. *Cap. Regió acrosòmica. Segment equatorial.*

FSE, zona frontal del segment equatorial de la vesícula acrosòmica; **LSE**, zona lateral del segment equatorial de la vesícula acrosòmica; **MF**, material fibrós perinuclear; **N**, nucli. 51000 X.

Fig. C. *Cap. Regió postacrosòmica. Zona proximal.*

LD, làmina densa postacrosòmica; **MF**, material fibrós perinuclear; **N**, nucli. 50000 X.

Fig. D. *Cap. Regió postacrosòmica. Zona distal.*

LD, làmina densa postacrosòmica; **MF**, material fibrós perinuclear; **N**, nucli. 45000 X.

Fig. E. *Coll o peça de connexió. Zona proximal.*

A, axonema; **CL**, cossos laminars; **CS**, columnes segmentades; **P**, plasmalema. 80000 X.

Fig. F. *Coll o peça de connexió. Zona distal.*

A, axonema; **CS**, columnes segmentades; **P**, plasmalema. 100000 X.

Fig. G. *Cua. Peça intermèdia. Zona proximal.*

BM, beina mitocondrial; **FD**, fibres denses; **P**, plasmalema. 80000 X.

Fig. H. *Cua. Peça intermèdia. Zona distal.*

BM, beina mitocondrial; **FD**, fibres denses. 100000 X.

Fig. I. *Cua. Peça principal. Zona medial.*

CF, eixos o columnes fibroses de la beina fibrosa; **EF**, costelles fibroses de la beina fibrosa; **FD**, fibres denses; **P**, plasmalema. 100000 X.

Fig. K. *Cua. Peça principal. Zona distal.*

BF, beina fibrosa; **P**, plasmalema. 100000 X.

Fig. L. *Cua. Peça terminal.*

A, axonema. 100000 X.

LÀMINA XXII

Figures: A a G.

LÀMINA XXII.

Seccions longitudinals d'espermatozoides madurs. Microscòpia electrònica d'escànnig (5800 X) i de transmissió.

Fig. A. *Cap. Regió acrosòmica. Segments apical i principal.*

ESA, espai subacrosòmic; **MF**, material fibrós perinuclear; **N**, nucli; **SA**, segment apical de la vesícula acrosòmica; **SP**, segment principal de la vesícula acrosòmica. 50000 X.

Fig. B. *Cap. Regió acrosòmica (segment equatorial) i regió postacrosòmica.*

LD, làmina densa postacrosòmica; **MF**, material fibrós perinuclear; **N**, nucli; **P**, plasmalema; **SE**, segment equatorial de la vesícula acrosòmica. 60000 X.

Fig. C. *Cap (regió postacrosòmica) i coll o peça de connexió.*

C, capitulum; **CB**, cos basal; **CL**, cossos laminars; **CS**, columnes segmentades; **LD**, làmina densa postacrosòmica; **MF**, material fibrós perinuclear; **N**, nucli; **PB**, placa basal. 60000 X.

Fig. D. *Cua. Peça intermèdia o regió mitocondrial.*

A, axonema; **BM**, mitocondries de la beina mitocondrial; **FD**, fibres denses. 80000 X.

Fig. E. *Cua. Peça intermèdia i peça principal.*

AJ, anell de Jensen; **BF**, beina fibrosa; **BM**, beina mitocondrial. 50000 X.

Fig. F. *Cua. Peça principal.*

A, axonema; **BF**, beina fibrosa; **P**, plasmalema. 100000 X.

Fig. G. *Cua. Peça principal i peça terminal.*

PP, peça principal; **PT**, peça terminal. 53000 X.

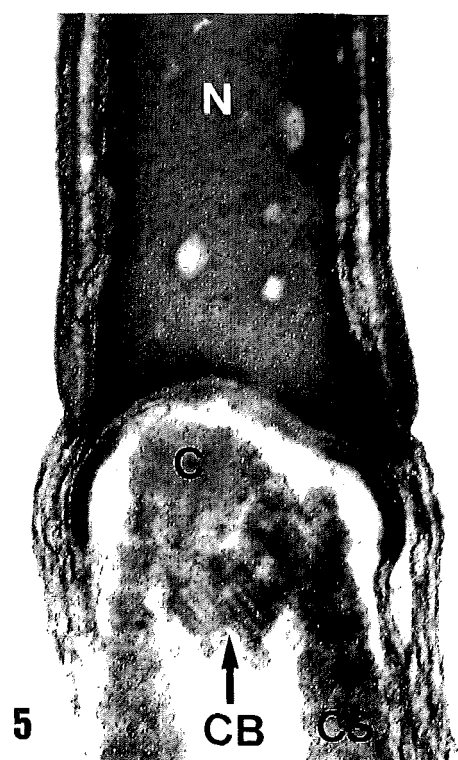
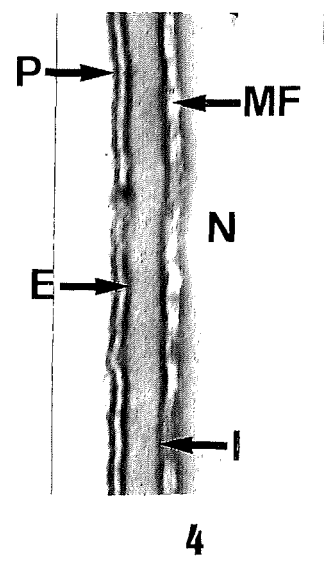
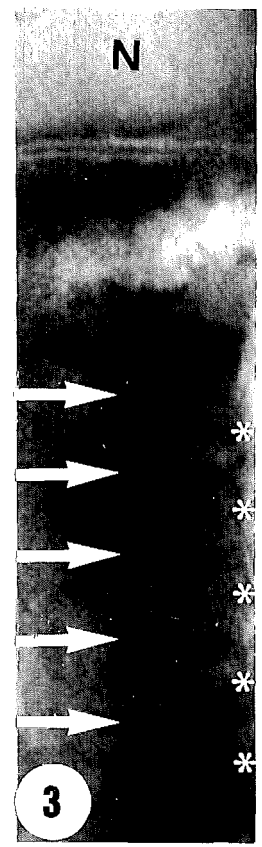
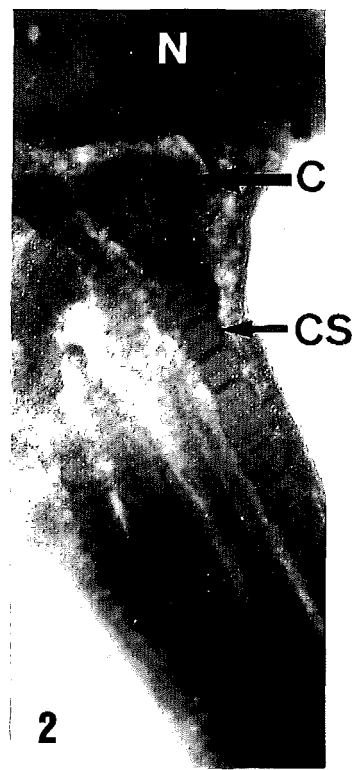
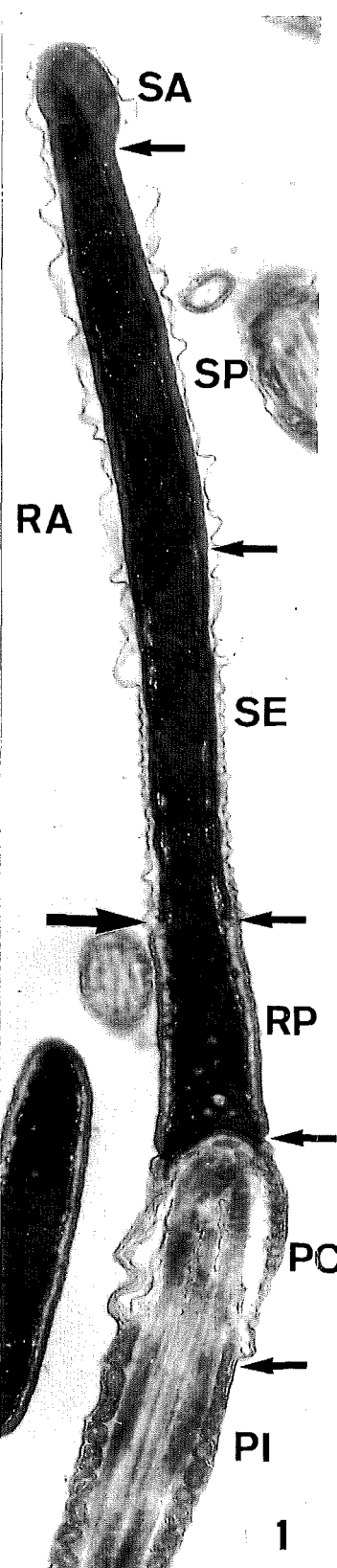
LÀMINA XXIII

Figures: 1 a 5.

LÀMINA XXIII.

Ultraestructura del cap i de la peça de connexió d'espermatozoides madurs.
Microscòpia electrònica de transmissió.

- Fig. 1.** Secció longitudinal del cap i de les peces de connexió (**PC**) i intermèdia (**PI**). El cap està dividit en dues regions, la regió acrosòmica (**RA**) i la regió postacrosòmica (**RP**). En la regió acrosòmica hom pot observar els tres segments de l'acrosoma: segment apical (**SA**), segment principal (**SP**) i segment equatorial (**SE**). 24000 X.
- Fig. 2.** Secció longitudinal de la base del cap i de la peça de connexió. **C**, capitulum; **CS**, columnes segmentades; **N**, nucli. 60000 X.
- Fig. 3.** Secció longitudinal d'una columna segmentada en què es mostra la particular segmentació transversal. Les fletxes indiquen les estries amples i els asteriscs les estries estretes. **N**, nucli. 150000 X.
- Fig. 4.** Secció longitudinal del segment principal de la regió acrosòmica del cap. **E**, membrana acrosòmica externa; **I**, membrana acrosòmica interna; **MF**, material fibrós perinuclear; **N**, nucli; **P**, plasmalema. 80000 X.
- Fig. 5.** Secció longitudinal del cap i de la peça de connexió. **C**, capitulum; **CB**, cos basal; **CS**, columnes segmentades; **N**, nucli. 75000 X.



LÀMINA XXIV

Figures: A a G.

LÀMINA XXIV.

Seccions transversals d'espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. Microscòpia electrònica d'escànnig (7000 X) i de transmissió.

- Fig. A.** Secció transversal de la regió principal de la vesícula acrosòmica (VA). La peça principal (PP), molt a prop de la vesícula acrosòmica, està envoltada de restes citoplasmàtiques (CR). La peça principal es doblega de forma que una de les costelles de la beina fibrosa, concretament la que es correspon amb el doblet perifèric núm. 3, es disposa prop de la vesícula acrosòmica definint un angle d'uns 80° respecte a l'eix transversal del nucli (N). 75000 X.
- Fig. B.** Secció transversal de la regió postacrosòmica del cap. Hom pot observar la presència de cossos de mielina (CM) entre la làmina densa (LD) i el material fibrós (MF). La peça principal (PP) es disposa entre la làmina densa i el plasmalema (P). L'eix que marquen les dues costelles fibroses es disposa en angle de 90° respecte a l'eix transversal del nucli (N); la costella del doblet perifèric núm. 3 és la més propera a la làmina densa. 60000 X.
- Fig. C.** Secció transversal de la peça de connexió al nivell dels cossos laminars (CL). La peça principal (PP) interromp el recorregut concèntric dels cossos laminars i es disposa prop del plasmalema (P). CS, columnes segmentades; M, microtúbuls centrals de l'axonema. 60000 X.
- Fig. D.** Secció transversal de la peça de connexió al nivell de la zona més propera a la peça intermèdia. Les estructures axonemàtiques de la peça principal (PP) i de la peça de connexió (PC) es disposen en sentit antiparalel. 70000 X.
- Fig. E.** Secció transversal de la peça intermèdia al nivell de la zona més propera a la peça de connexió. La beina fibrosa de la peça principal (PP) imprimeix una lleugera depressió en la beina mitocondrial de la peça intermèdia (PI). El doblet microtubular núm. 8 de la peça principal es disposa contra el doblet microtubular núm. 8 de la peça intermèdia. Les parelles de microtúbuls centrals de les dues peces són coplanars. 80000 X.
- Fig. F.** Secció transversal de la peça intermèdia. La beina fibrosa de la peça principal (PP) provoca una profunda depressió (D) en la beina mitocondrial de la peça intermèdia (PI). Ambdues peces estan envoltades per citoplasma residual (CR). El doblet microtubular núm. 3 de la peça principal es disposa contra els doblats microtubulars núm. 7 i 8 de la peça intermèdia. 80000 X.
- Fig. G.** Secció transversal de la peça intermèdia al nivell de l'anell de Jensen. La peça principal (PP) i la intermèdia (PI) estan envoltades i cimentades per la gota citoplasmàtica (GC). La gota citoplasmàtica es caracteritza per la presència de nombroses vesícules (V) de doble membrana. Els doblats microtubulars núm. 5 i 6 de la peça principal es disposen contra els doblats núm. 5 i 6 de la peça intermèdia. 40000 X.

LÀMINA XXV

Figures: A a G.

LÀMINA XXV.

Seccions transversals i longitudinals d'espermatozoides amb dues cues fusionades i amb un sol cap (esquerra: 3600 X) o amb dos caps (dreta: 4600 X). Microscòpia electrònica d'escànnig i de transmissió.

Fig. A. Secció longitudinal al nivell del cap, peça de connexió i peça intermèdia. Cada cua presenta una dotació estructural completa. **A**, axonema; **N**, nucli. 21000 X.

Fig. B. Secció transversal de la peça de connexió al nivell de la zona dels cossos laminars (**CL**). En aquesta regió s'observen dos jocs complets de columnes segmentades (**CS**) i l'absència d'estructures microtubulars. 40000 X.

Fig. C. Secció transversal de la peça de connexió per la zona més propera a la peça intermèdia. La parella de microtúbuls centrals (**M**), pròpia de l'axonema, apareix encerclada per les nou columnes segmentades. Els dos jocs de columnes segmentades estan envoltats de restes citoplasmàtiques, corresponents a la gota citoplasmàtica, en què hom pot apreciar estructures vesiculars (**V**) de doble membrana derivades del reticle endoplasmàtic llis. 60000 X.

Fig. D, E i F. Seccions transversals de la peça intermèdia per la zona més propera a la peça de connexió. Aquesta zona es caracteritza per la presència de la gota citoplasmàtica (**GC**) que inclou restes citoplasmàtiques (**CR**) i vesícules de doble membrana (**V**). En aquesta zona, les dues peces intermèdies (**PI**), completament formades, es troben allunyades una de l'altra, però, gradualment, s'aniran apropant fins a fusionar-se (**FM**) per les respectives beines mitocondrials (**BM**). 40000 X.

Fig. G. Secció transversal de la peça intermèdia per la zona més propera a la peça principal. Les dues peces intermèdies (**PI**), estretament unides per les respectives beines mitocondrials, estan envoltades per una fina pel·licula citoplasmàtica i limitades pel plasmalema. 60000 X.

LÀMINA XXVI

Figures: 1 a 5.

LÀMINA XXVI.

Ultraestructura d'espermatozoides amb la cua enrotllada. Microscòpia electrònica d'escànnig i de transmissió.

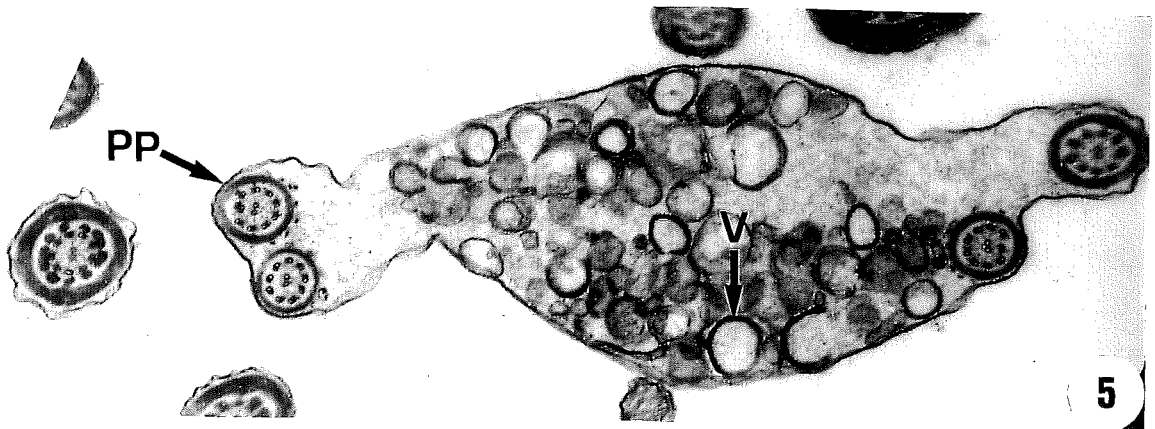
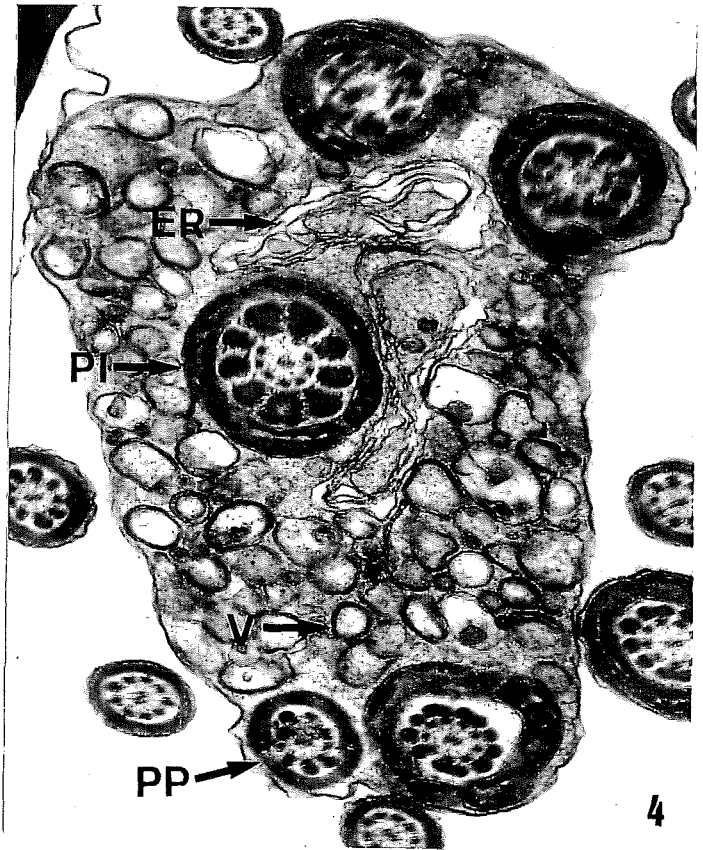
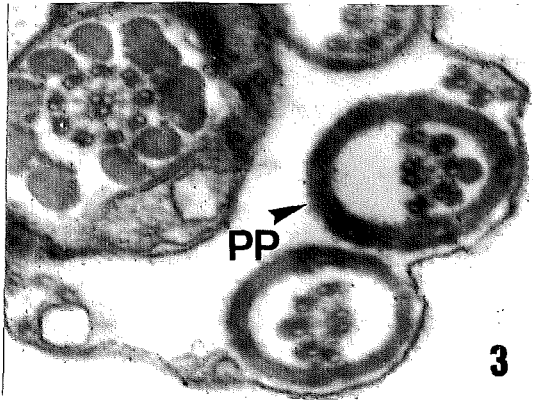
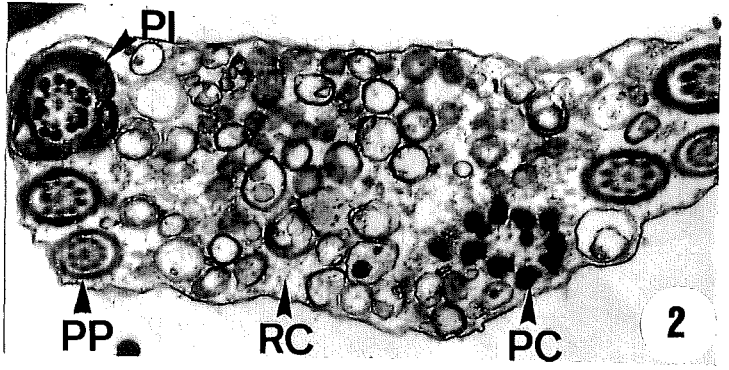
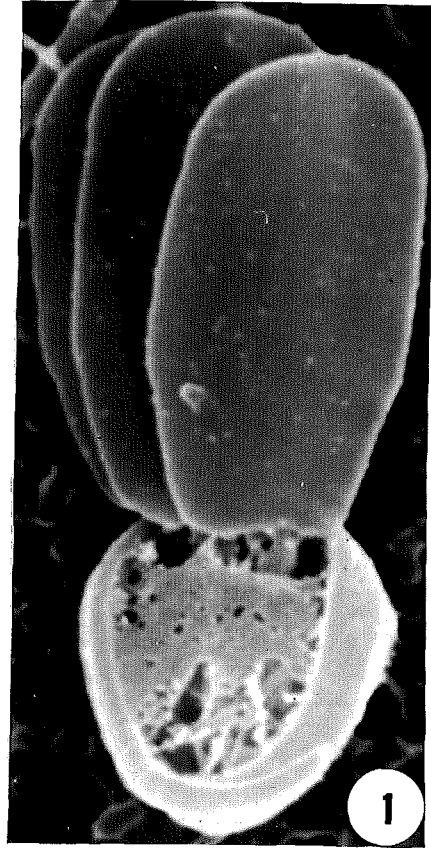
Fig. 1. Espermatozoide amb tres caps i la cua enrotllada. 10000X.

Fig. 2. Secció transversal de la cua enrotllada al nivell de la peça de connexió. **PC**, peça de connexió; **PI**, peça intermèdia; **PP**, peça principal; **RC**, restes citoplasmàtiques. 21000 X.

Fig. 3. Secció transversal de la cua enrotllada d'un espermatozoide degenerat. Observeu la falta de doblats microtubulars en l'axonema de la peça principal (**PP**). 50000 X.

Fig. 4. Secció transversal d'una cua enrotllada al nivell de la peça intermèdia. Observeu l'aspecte vesicular del citoplasma, que inclou les seccions de la peça intermèdia (**PI**) i la peça principal (**PP**). **ER**, reticle endoplasmàtic; **V**, vesícules. 34000 X.

Fig. 5. Secció transversal d'una cua enrotllada al nivell de la peça principal (**PP**). **V**, vesícules. 24000 X.



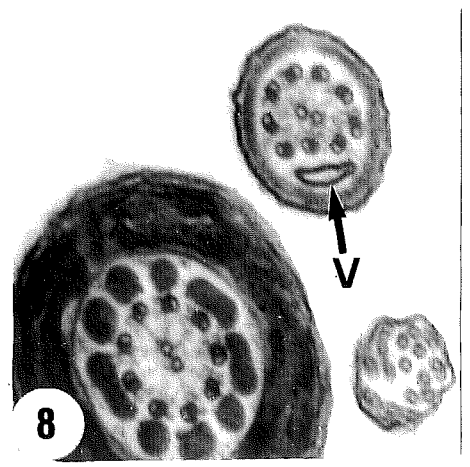
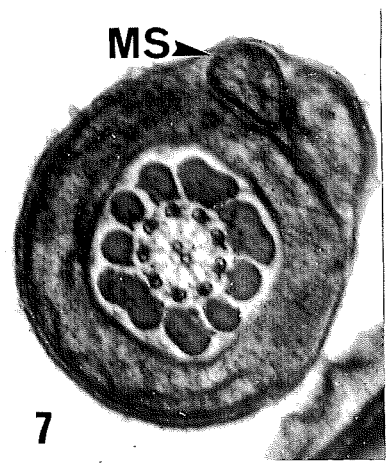
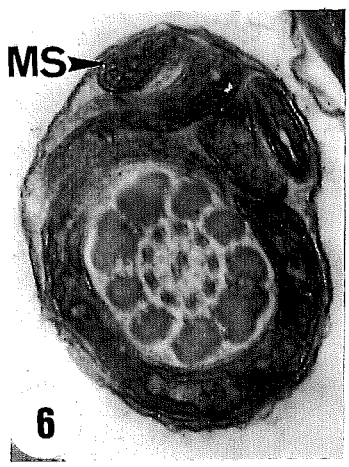
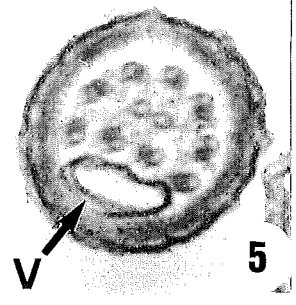
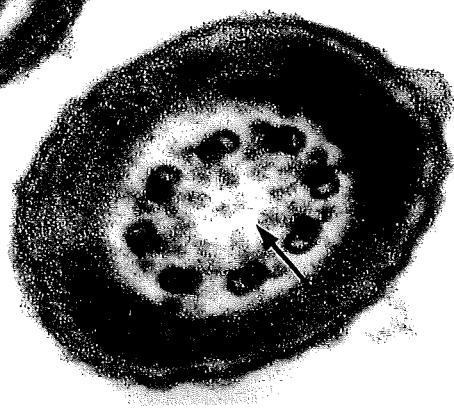
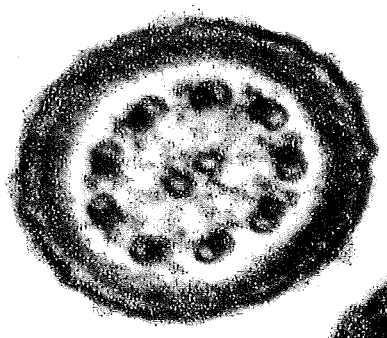
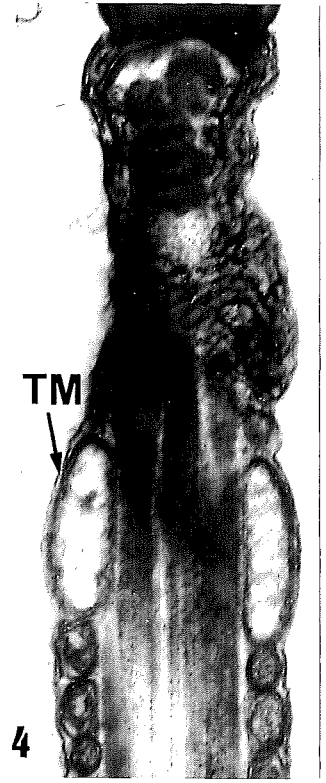
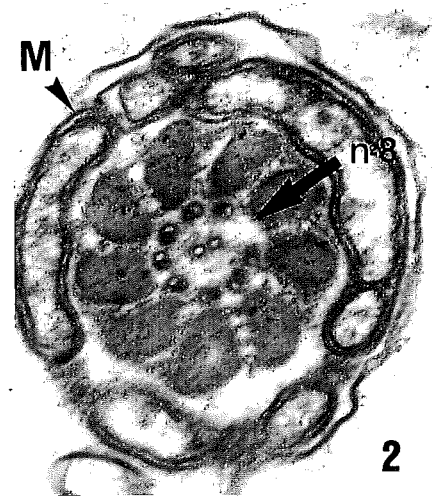
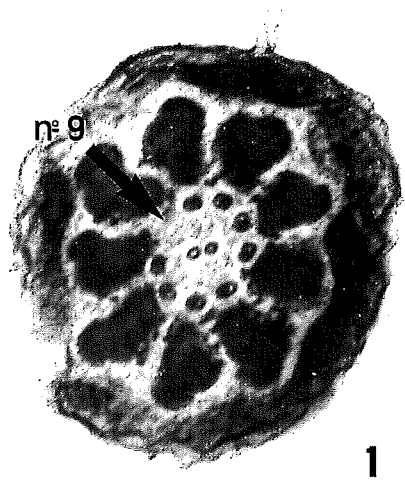
LÀMINA XXVII

Figures: 1 a 8.

LÀMINA XXVII.

Malformacions de la cua dels espermatozoides: manca de microtúbuls axonemàtics, vesícules axonemàtiques i mitocòndries supernumeràries. Microscòpia electrònica de transmissió.

- Fig. 1.** Secció transversal de la peça intermèdia en què hom pot observar la manca del doblet microtubular perifèric núm. 9. La fletxa indica la posició que hauria d'ocupar el doblet núm. 9. 70000 X.
- Fig. 2.** Secció transversal de la peça intermèdia en què hom pot observar la manca del doblet microtubular perifèric núm. 8. La fletxa indica la posició que hauria d'ocupar el doblet núm. 8. Observeu també la malformació mitocondrial: les mitocòndries (**M**) de la beina mitocondrial no presenten crestes. 75000 X.
- Fig. 3.** Secció transversal de dues peces principals. A la inferior hom pot observar la manca de la parella de microtúbuls centrals de l'axonema. La fletxa indica la posició que hauria d'ocupar la parella de microtúbuls centrals. 140000 X.
- Fig. 4.** Secció longitudinal de la peça de connexió i de la intermèdia d'un espermatozoide que presenta tumefacció mitocondrial (**TM**) en les primeres mitocòndries que formen la beina mitocondrial. 45000 X.
- Fig. 5.** Secció transversal de la peça principal en què hom pot observar vesiculització en l'estructura axonemàtica. La vesícula (**V**), situada entre l'axonema i la beina fibrosa, provoca el desplaçament dels doblets perifèrics núm. 5 i 6. 100000 X.
- Fig. 6.** Secció transversal de la peça intermèdia d'un espermatozoide que presenta una disposició irregular de les mitocòndries en la beina mitocondrial. **MS**, mitocòndries supernumeràries. 50000 X.
- Fig. 7.** Secció transversal de la peça intermèdia d'un espermatozoide que presenta mitocòndries supernumeràries (**MS**). 60000 X.
- Fig. 8.** Secció transversal d'una peça principal vesiculitzada. La vesícula (**V**) es disposa entre l'axonema i la beina fibrosa, desplaçant els doblets microtubulars perifèrics núm. 5 i 6. 60000 X.



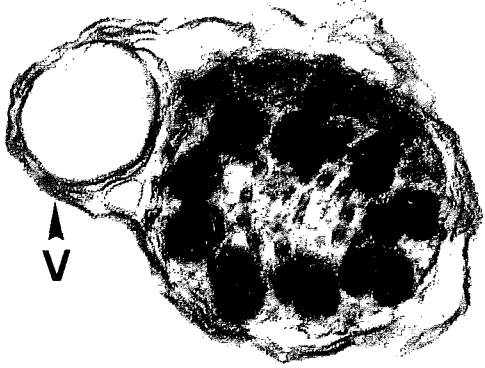
LÀMINA XXVIII

Figures: 1 a 5.

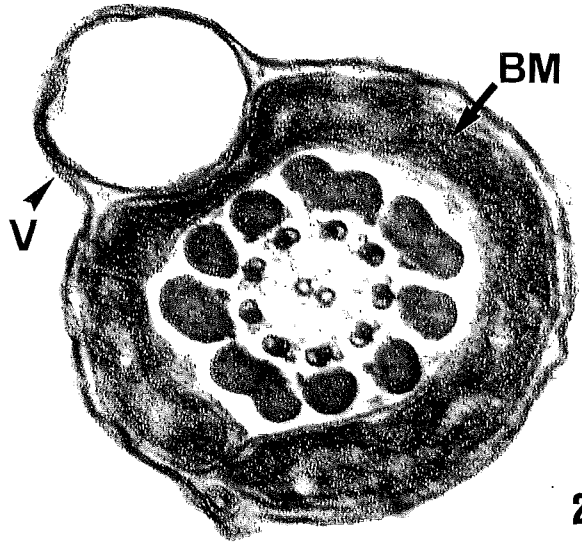
LÀMINA XXVIII.

Malformacions de la cua dels espermatozoides: vesiculització perifèrica.
Microscòpia electrònica de transmissió.

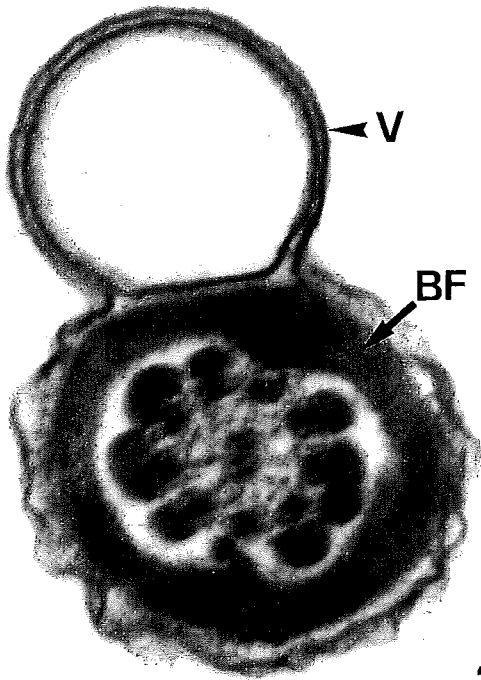
- Fig. 1.** Secció transversal d'una peça de connexió que presenta vesiculització perifèrica (V). 60000 X.
- Fig. 2.** Secció transversal d'una peça intermèdia que presenta vesiculització perifèrica. La vesícula (V) provoca una profunda depressió en la beina mitocondrial (BM). 100000 X.
- Fig. 3.** Secció transversal d'una peça principal que presenta vesiculització perifèrica. La vesícula (V) no provoca cap deformació de la beina fibrosa (BF). 85000 X.
- Fig. 4.** Secció transversal d'una peça principal en els darrers estadis del procés d'expulsió de la vesícula (V). 50000 X.
- Fig. 5.** Secció transversal d'una peça principal en el darrer estadi del procés d'expulsió de la vesícula (V). La vesícula s'acaba de desprendre de la peça principal. 65000 X.



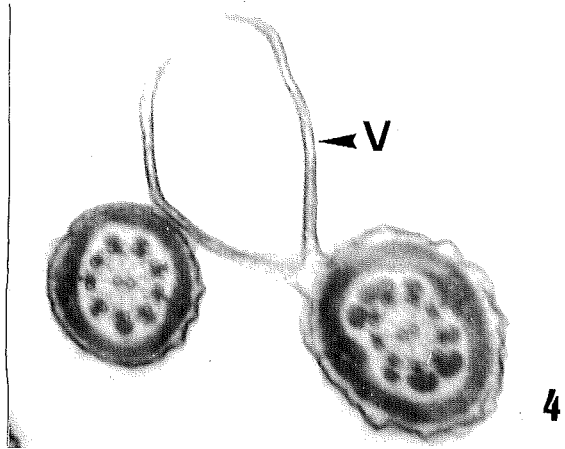
1



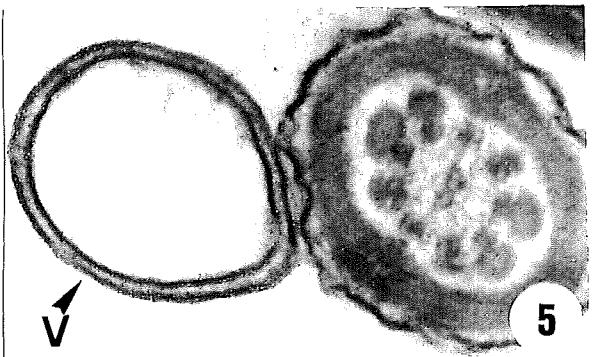
2



3



4



5

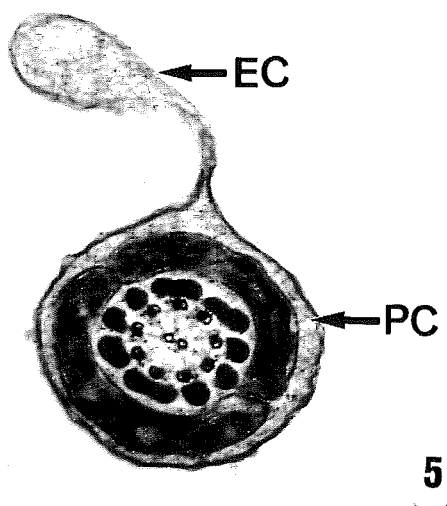
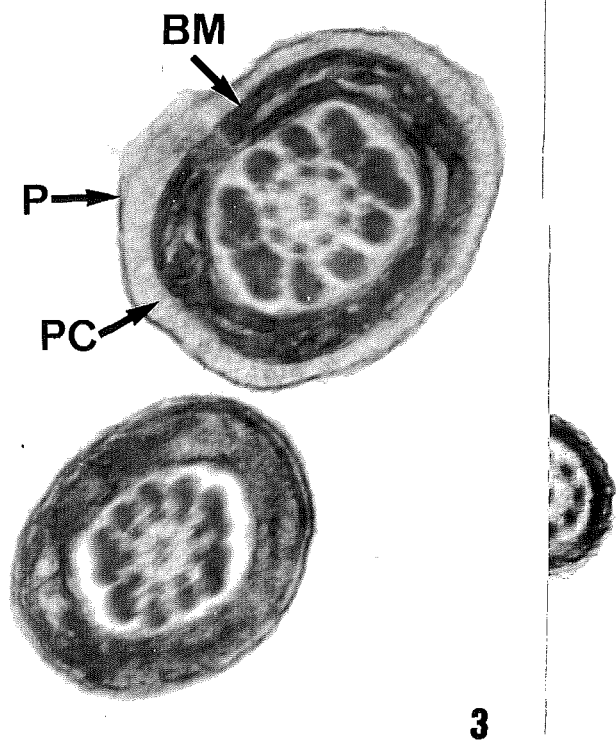
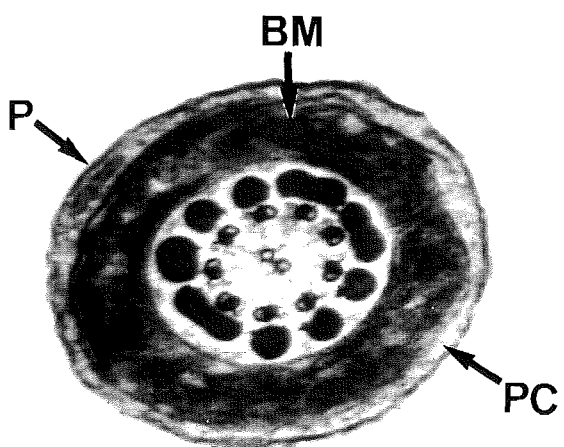
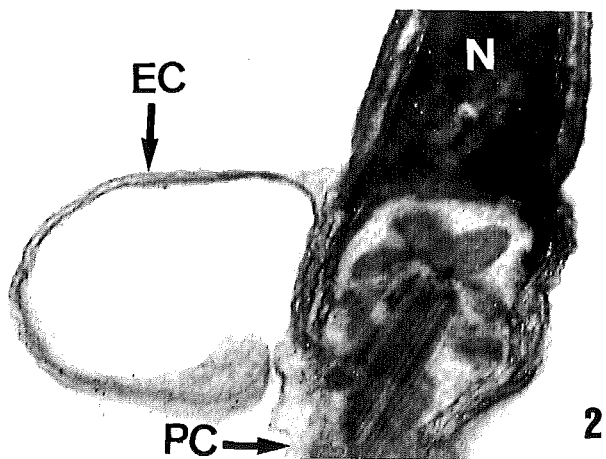
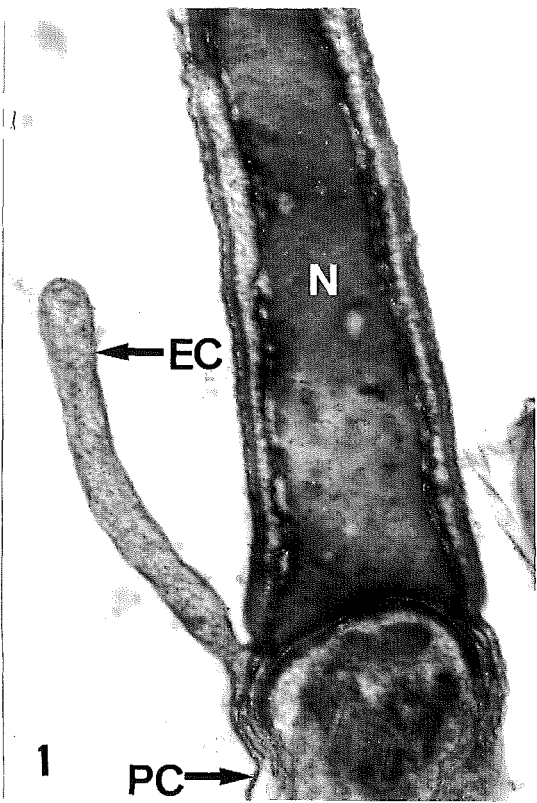
LÀMINA XXIX

Figures: 1 a 5.

LÀMINA XXIX.

Malformacions de la cua dels espermatozoides: citoplasma residual. Microscòpia electrònica de transmissió.

- Fig. 1.** Secció longitudinal del cap i de la peça de connexió d'un espermatozoide que presenta una expansió citoplasmàtica digitiforme situada a la base del cap. **EC**, expansió citoplasmàtica; **N**, nucli; **PC**, peça de connexió. 60000 X.
- Fig. 2.** Secció longitudinal del cap i de la peça de connexió d'un espermatozoide que presenta una expansió citoplasmàtica filiforme molt desenvolupada que es corba tancant-se sobre si mateixa. **EC**, expansió citoplasmàtica; **N**, nucli; **PC**, peça de connexió. 60000 X.
- Fig. 3.** Secció transversal al nivell del terç inferior d'una peça intermèdia que presenta una pel·lícula citoplasmàtica lleugerament desenvolupada entre el plasmalema i la beina mitocondrial. **BM**, beina mitocondrial; **P**, plasmalema; **PC**, pel·lícula citoplasmàtica. 60000 X.
- Fig. 4.** Secció transversal al nivell del terç superior d'una peça intermèdia amb una pel·lícula citoplasmàtica perimitocondrial molt desenvolupada. **BM**, beina mitocondrial; **P**, plasmalema; **PC**, pel·lícula citoplasmàtica. 80000 X.
- Fig. 5.** Secció transversal al nivell del terç inferior d'una peça intermèdia que presenta una expansió citoplasmàtica fungiforme derivada de la pel·lícula citoplasmàtica perimitocondrial. **EC**, expansió citoplasmàtica; **PC**, pel·lícula citoplasmàtica. 45000 X.



LÀMINA XXX

Figures: 1 a 5.

LÀMINA XXX.

Espermatozoides immadurs: gota citoplasmàtica. Microscòpia electrònica de transmissió.

Fig. 1. Secció transversal al nivell del terç inferior de la peça intermèdia. **GC**, gota citoplasmàtica; **PI**, peça intermèdia. 40000 X.

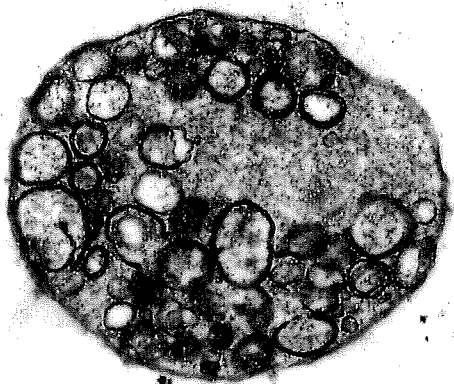
Fig. 2. Secció transversal al nivell del terç superior de la peça intermèdia. Observeu la presència de grans vesícules limitades per membrana en la gota citoplasmàtica (**GC**). **PI**, peça intermèdia; **V**, vesícules. 40000 X.

Fig. 3. Secció transversal al nivell del terç inferior de la peça intermèdia. Observeu la presència de nombroses vesícules, unes limitades per una única membrana (**UM**) i unes altres limitades per una doble membrana (**DM**). 60000 X.

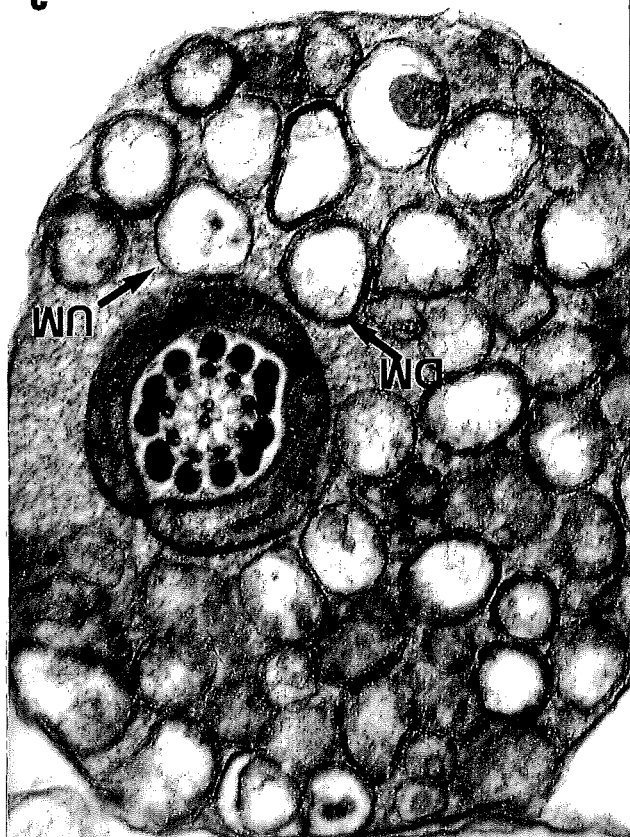
Fig. 4. Secció transversal al nivell del terç inferior de la peça intermèdia. Observeu la presència de la gran vesícula (**V**) limitada per una única membrana. 40000 X.

Fig. 5. Secció d'una gota citoplasmàtica lliure entre l'esperma. 34000 X.

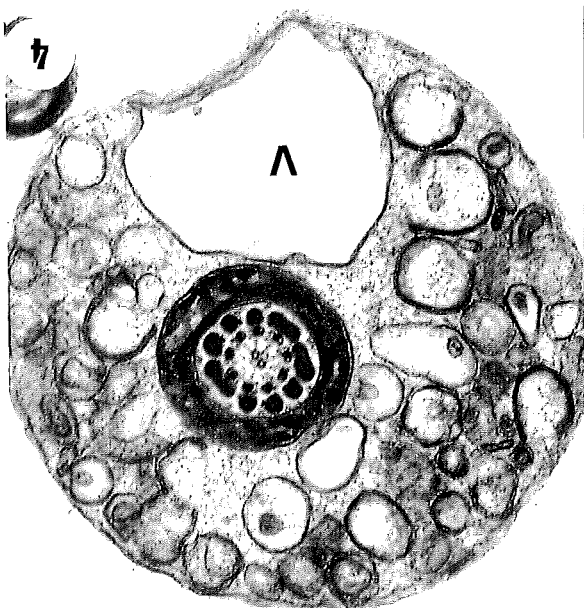
5



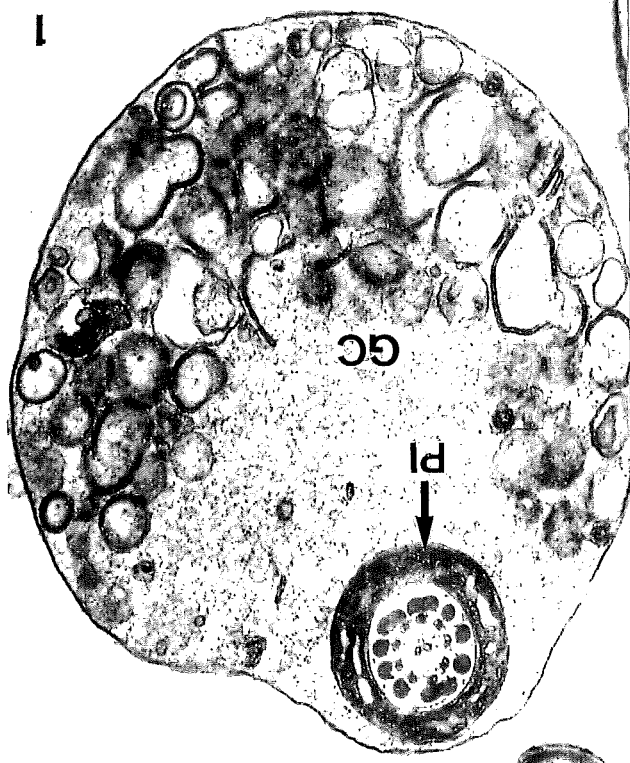
3



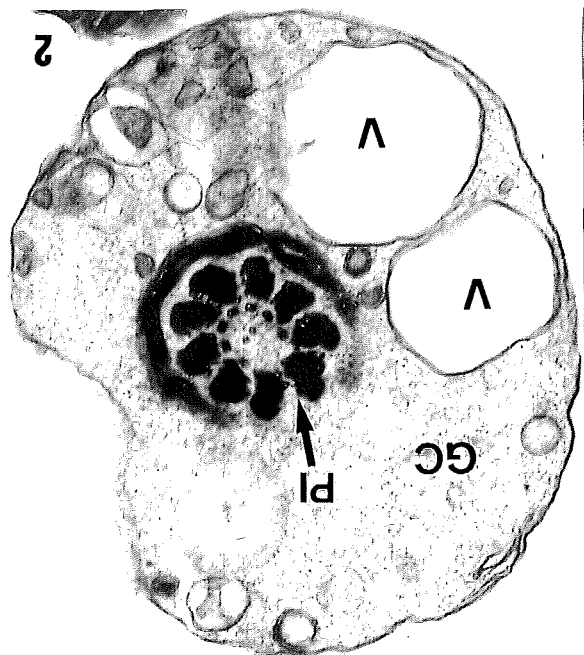
4



1



2



LÀMINA XXXI

Figures: 1 a 7.

LÀMINA XXXI.

Malformacions del cap dels espermatozoides: figures de mielina, vacúols nuclears, vesiculitzacions i dilatacions acrosòmiques. Microscòpia electrònica de transmissió.

Fig. 1. Aspecte d'una dilatació acrosòmica. La vesícula acrosòmica es troba molt més desenvolupada del que és habitual. L'aspecte clar i vacuolitzat del contingut acrosòmic són dues característiques típiques d'aquesta malformació acrosòmica. **EA**, membrana acrosòmica externa; **IA**, membrana acrosòmica interna; **N**, nucli; **P**, plasmalema. 60000 X.

Fig. 2. Aspecte de les figures de mielina (**FM**), situades entre la làmina densa postacrosòmica (**LD**) i el material fibrós perinuclear (**MF**). **N**, nucli. 60000 X.

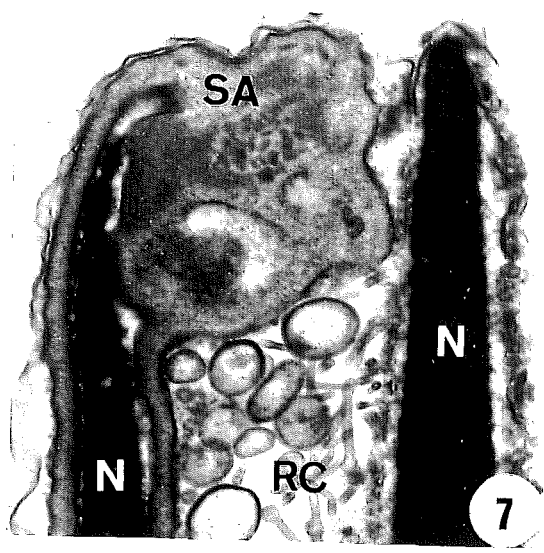
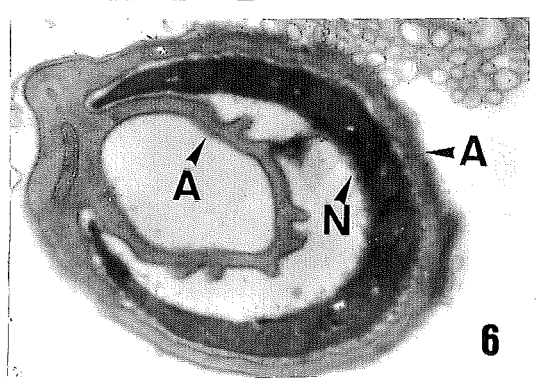
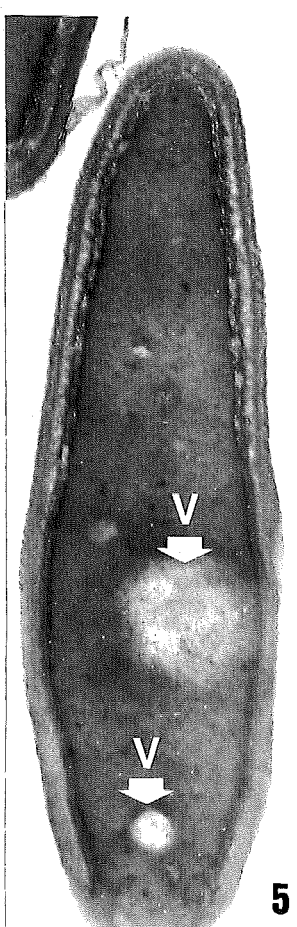
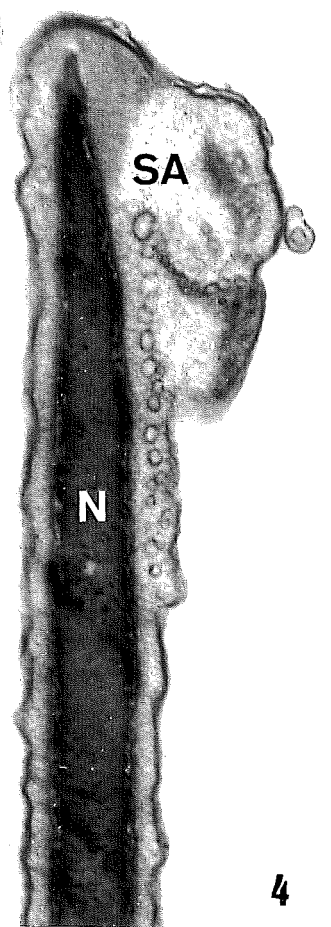
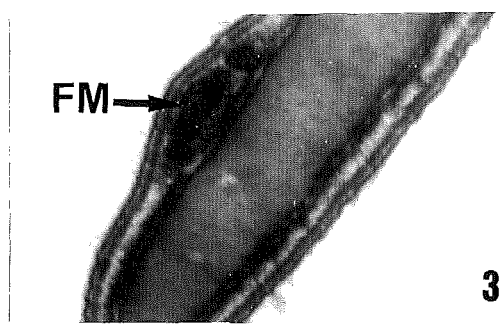
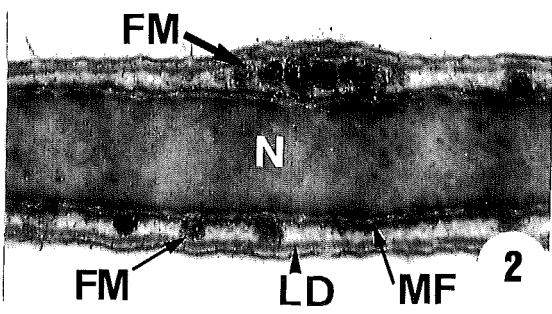
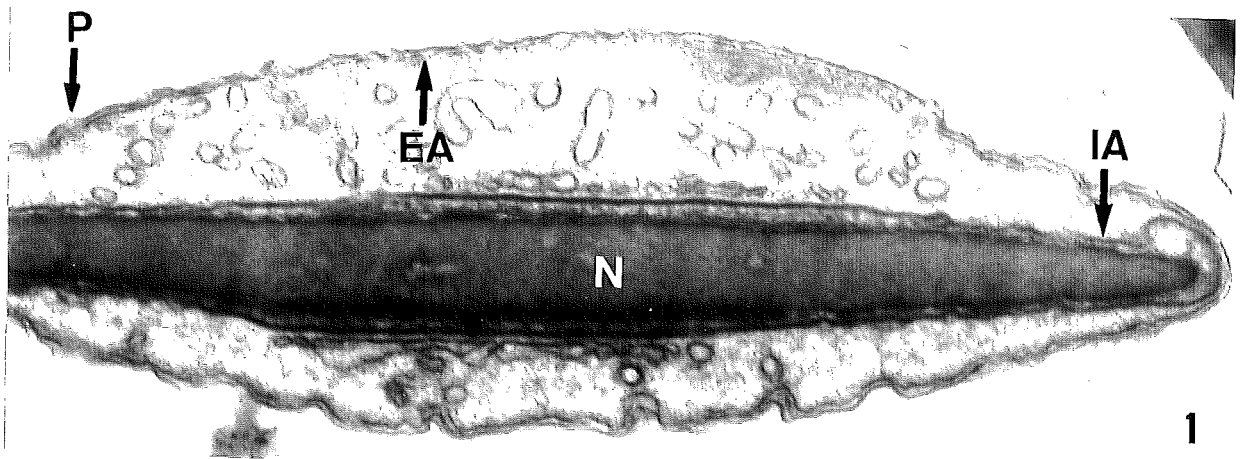
Fig. 3. Aspecte d'unes figures de mielina (**FM**) molt desenvolupades que provoquen una lleugera deformació del contorn cefàlic. 60000 X.

Fig. 4. Aspecte d'una dilatació acrosòmica. El segment apical de l'acrosoma (**SA**) es troba dilatat i ocupat per un material d'electrodensitat no uniforme i per nombroses i petites vesícules. **N**, nucli. 40000 X.

Fig. 5. Aspecte d'un nucli amb àrees pobres en cromatina o sense cromatina (vacúols nuclears) (**V**). 60000 X.

Fig. 6. Malformació cefàlica que afecta la forma i disposició del nucli (**N**) i de l'acrosoma (**A**). 30000 X.

Fig. 7. Malformació cefàlica que afecta la forma i disposició del nucli (**N**) i del segment apical de l'acrosoma (**SA**). **RC**, restes citoplasmàtiques. 34000 X.



LÀMINA XXXII

Figures: 1, 2 i 3.

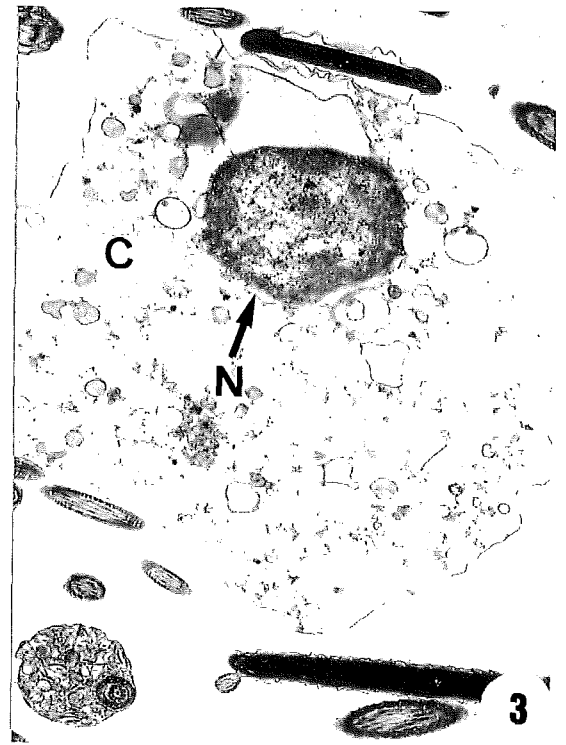
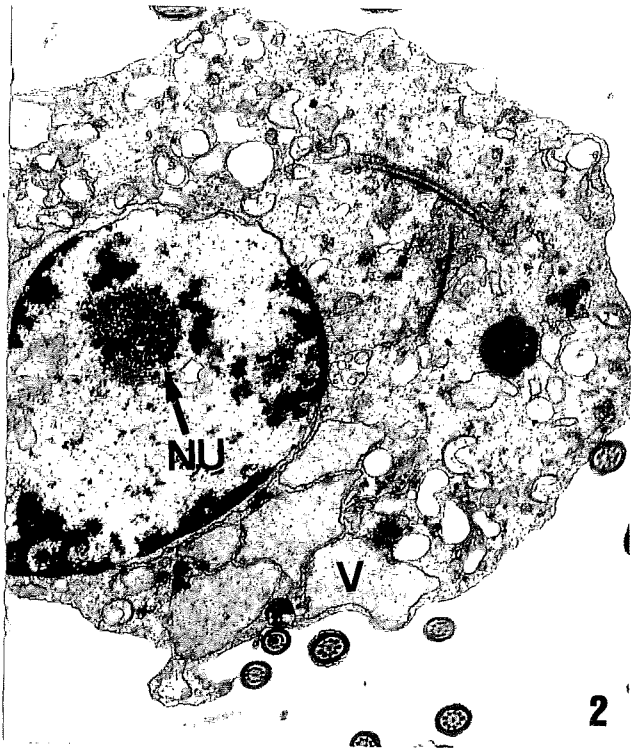
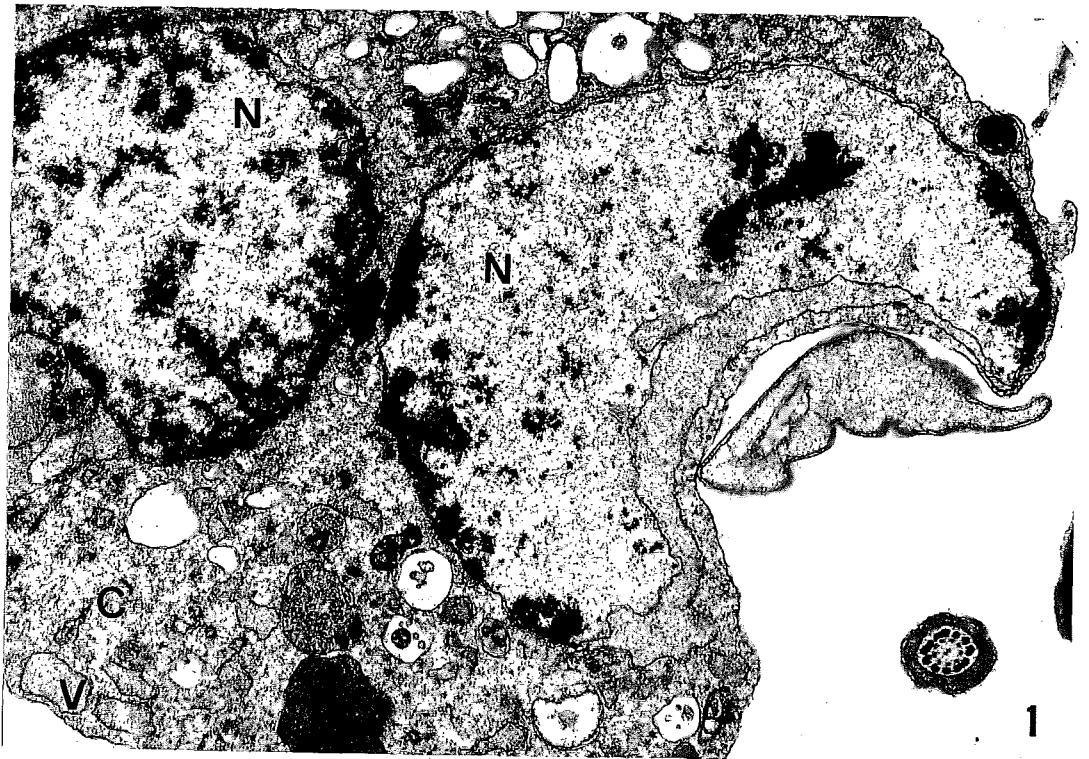
LÀMINA XXXII.

Cèl.lules somàtiques. Microscòpia electrònica de transmissió.

Fig. 1. Aspecte general del nucli (N) i del citoplasma (C) d'una cèl.lula somàtica. El nucli apareix lobulat amb cromatina laxa i amb escasses àrees heterocromàtiques disperses entre el nucleoplasma o adherides a l'embolcall nuclear. En el citoplasma destaca la presència d'abundants vesícules d'endocitosi (V). 15000 X.

Fig. 2. Aspecte del nuclèol (NU) típicament granular d'una cèl.lula somàtica. V, vesícules d'endocitosi. 10000 X.

Fig. 3. Aspecte d'una cèl.lula somàtica degenerada. Observeu l'aspecte picnòtic del nucli (N) i l'aspecte plasmoltsat del citoplasma (C). 7000 X.



DISCUSSIÓ.

1. L'ESPERMATOZOIDE MADUR.

El nucli dels espermatozoides madurs dels mamífers presenta, generalment, una elevada condensació cromàtica (Baccetti i Afzelius, 1976) (Esponda, 1985). El procés de condensació de la cromatina, si bé es produeix fonamentalment en l'espermioogènesi, es completa quan l'espermatozoide travessa el conducte epididimari (Zamboni, 1991). D'acord amb aquest autor, la presència de vacúols nuclears en els espermatozoides ejaculats és un signe d'immaduresa cel.lular. L'estructura i l'origen dels cossos laminars han estat molt estudiats per Fawcett i Phillips (1969). En aquesta regió de l'embolcall nuclear hom pot observar una gran quantitat de porus nuclears a través dels quals es produiran els intercanvis de material entre el citoplasma i el nucli de l'espermatozoide (Zamboni i Stefanini, 1971).

El segment apical de l'acrosoma és una estructura comuna en els espermatozoides dels mamífers (Fawcett, 1975). La morfologia d'aquest segment acrosòmic es modifica a mesura que l'espermatozoide avança pel conducte epididimari. Hom pot establir el grau de maduresa de l'espermatozoide a partir de l'estat de l'acrosoma (Bedford i Nicander, 1971) (Bedford i col., 1973). El segment equatorial de l'acrosoma de l'espermatozoide de *Sus domesticus*, en comparació amb el dels altres mamífers, és un dels més desenvolupats (Nicander i Bane, 1962 i 1966). Bedford i col. (1979) han demostrat que la membrana plasmàtica que cobreix el segment equatorial de l'acrosoma participa activament en la fusió de l'espermatozoide i l'oòcit. Per altra banda, Guraya (1987) destaca els canvis produïts en els carbohidrats de la membrana acrosomal de l'espermatozoide de *Sus domesticus* al llarg del recorregut epididimari dels espermatozoides. Phillips (1977) observa que la superfície de la membrana acrosòmica externa està formada per partícules, espaiades 17 nm, que uneixen la membrana acrosòmica externa amb el plasmalema. Moore i col. (1974), aplicant tècniques de criofixació, observen àrees electrodenses amb estructures paracrystal.lines en el contingut acrosòmic dels espermatozoides de *Sus domesticus*. Per a alguns autors, aquestes estructures apareixen com a conseqüència d'un traumatisme i per a altres es corresponen amb un patró d'ordenació espacial compacta dels enzims acrosòmics (Guraya, 1987).

La presència de material fibrós en l'espai subacrosòmic ha estat descrita en *Sus domesticus* per Jones (1971) i en humans per Camparella i col. (1979). D'acord amb

aquests autors, l'espai subacrosòmic és ric en actina i miosina. Guraya (1987) assenyala que l'acrosoma dels espermatozoides dels mamífers limita amb el nucli per un espai que conté actina i miosina i altres proteïnes que es troben estabilitzades per ponts disulfur entre cisteïnes. L'espai subacrosòmic, que apareix al llarg de l'espermioogènesi, segueix importants modificacions citoquímiques (per exemple, l'establiment de ponts disulfur) durant el procés de maduració epididimària (Calvin i Bedford, 1971). Respecte al paper funcional d'aquesta estructura proteica subacrosòmica hi ha diverses opinions. Per a alguns autors cimenta l'acrosoma i el nucli, i per a altres, basant-se en la seva naturalesa escleroproteica, és anàloga al perforatori dels espermatozoides dels rosegadors i se li assigna una funció mecànica en el moment de la penetració de l'espermatozoide a través de la zona pel·lúcida de l'oòcit.

La presència de la làmina densa postacrosòmica a la regió posterior del nucli ha estat àmpliament descrita en els espermatozoides de molts mamífers. L'origen, la diferenciació i la composició química són qüestions molt debatudes. Segons Koehler (1973), les funcions més destacades de la làmina densa postacrosòmica són mantenir l'estreta cohesió entre l'embolcall nuclear i la membrana plasmàtica, i contribuir a l'establiment i manteniment de l'adhesió entre l'espermatozoide i l'oòcit.

El significat funcional de la placa basal ha estat apuntat per Stackpole i Devorkin (1974). D'acord amb aquests autors, la placa basal és el punt d'articulació entre el cap i la cua de l'espermatozoide i, en aquest sentit, és un element fonamental en l'ancoratge d'ambdues regions.

El capitulum i les columnes segmentades aporten rigidesa a la peça de connexió. Les proteïnes que formen aquestes estructures són riques en cisteïnes estabilitzades per ponts disulfur originats al llarg del trajecte de l'espermatozoide per l'epidídim (Bedford i Calvin, 1974).

Calvin (1979), en practicar una anàlisi electroforètica en esperma de ratolí, va demostrar que les fibres denses estan constituïdes per quatre proteïnes diferents, riques en cisteïna i zenc. El paper citoesquelètic d'aquestes fibres ha estat demostrat per Baltz i col. (1990) i per Zamboni (1991) en evidenciar la seva naturalesa escleroproteica. Guraya (1987) suggereix que les fibres denses proporcionen elasticitat a la cua de l'espermatozoide i permeten una correcta adaptació del moviment ondulatori de la cua a les diferents viscositats dels medis que travessa l'espermatozoide des del fluid seminal fins a les vies genitals femenines.

La disposició helicoïdal de les mitocòndries al llarg de la peça intermèdia de l'espermatozoide ofereix major flexibilitat a la cua que les disposicions circulars o longitudinals (Phillips, 1977). La característica i atípica estructura de les mitocòndries

dels espermatozoides dels mamífers ha estat darrerament revisada per Guraya (1987). Es tracta de mitocòndries amb membranes riques en fosfolípids i amb una matriu granular. Aquesta reserva lipídica és una font energètica que serà utilitzada per proporcionar la motilitat a la cèl.lula.

L'origen i la funció de l'annulus o anell de Jensen han estat dos dels aspectes més debatuts de l'estructura dels espermatozoides dels mamífers. Segons Holstein i Roosen-Runge (1985), la presència de l'annulus està estretament relacionada amb la migració del centriol distal en els primers estadis de l'espermiogenesis. Fawcett (1970) assenyala que la funció de l'annulus és la d'impedir el desplaçament de les mitocòndries cap a la peça principal.

Dels estudis realitzats sobre la composició i funcions de la beina fibrosa, cal destacar el d'Olson (1979) que, a partir d'espermatozoides de ratolí, demostra la naturalesa queratínica dels eixos i costelles que configuren la beina fibrosa. Olson (1979), basant-se en la naturalesa química d'aquesta estructura, li atribueix una funció esquelètica, fonamental per mantenir l'estabilitat estructural de la cua.

2. LA MORFOLOGIA ESPERMÀTICA.

D'acord amb els estudis portats a terme per Larsson i Darenius (1980), en inseminació artificial porcina, només s'aconsegueixen resultats acceptables quan s'utilitzen mascles que mostren una qualitat espermàtica excel·lent. La qualitat espermàtica dels ejaculats (concentració, motilitat, vitalitat i morfologia) és un dels paràmetres més utilitzats per seleccionar mascles reproductors, especialment quan han de ser utilitzats per inseminació artificial. En inseminació artificial, tan important és la concentració espermàtica com la morfologia dels espermatozoides de l'ejaculat (Bonet i Castellanos, 1989). El control microscòpic de la morfologia espermàtica s'aborda al microscopi òptic mitjançant la tècnica de Papanicolaou o equivalents. Utilitzant aquests tipus de mètodes, Martín (1982) elabora un catàleg de les principals formes gamètiques anormals que inclou les formes cel·lulars immadures. D'acord amb aquest autor, l'esperma ejaculada de porcí conté un 10% d'espermatozoides aberrants i immadurs, i hom pot considerar-la acceptable per a la inseminació artificial si aquest percentatge no supera el 25%. El mateix autor assenyala que l'increment del 10% al 25% es produeix, generalment, per l'augment del nombre de formes immadures i que, quan els mascles són sotmesos a una extracció de semen cada dos dies, el percentatge d'espermatozoides aberrants oscil·la entre l'1% i el 2%.

La major resolució de la microscòpia electrònica i la possibilitat d'obtenir imatges tridimensionals a partir de la microscòpia electrònica d'escànnig han permès reclassificar i identificar moltes de les formes gamètiques aberrants observades al microscopi òptic. L'ús de la microscòpia electrònica d'escànnig en el camp de l'espermatologia fou introduït per Fujita i col. (1970) i, més tard, Lacy i col. (1974) i Dadoune i Fain-Maurel (1977) la van utilitzar per descriure les formes gamètiques aberrants. Zamboni (1991), basant-se en les imatges de la microscòpia electrònica, fa una excel·lent revisió morfofuncional de les estructures de l'espermatozoide humà, assenyala les principals malformacions i apunta els seus possibles orígens. En porcíns, la presència en l'ejaculat d'espermatozoides amb anomalies morfològiques es produeix al cap d'uns 15 dies d'haver exposat al mascle reproductor a un agent estressant. Aquest lapse dificulta l'establiment d'una relació entre l'agent causal, el major percentatge o nova presència d'una determinada forma gamètica aberrant en l'ejaculat i la incidència sobre la fertilitat del mascle.

Recentment la morfologia espermàtica dels ejaculats ha estat molt estudiada en toros (Barth i Oko, 1989). D'acord amb aquests autors, les malformacions espermàtiques es presenten per envelliment cel·lular o per factors externs (temperatura, ritme d'extraccions de semen, nutrició, etc.) que alteren el correcte desenvolupament dels diversos estadis de la morfogènesi espermàtica (espermatogènesi, espermiogènesi i maduració epididimària). Segons Barth i Oko (1989), les alteracions produïdes per cadascun d'aquests factors, endògens o exògens, poden ser específiques i és possible establir una correlació entre el factor o agent causal, la malformació espermàtica produïda i el grau d'incidència sobre la fertilitat del mascle. Aquest postulat ha pogut ser demostrat en alguns casos. Bonet i col. (1991) demostren que, quan els mascles reproductors porcíns són sotmesos a un elevat ritme d'extraccions de semen sense períodes de repòs sexual, la forma aberrant "espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen" pot incrementar el seu percentatge en l'ejaculat fins a un 7%. Eljack i Hrudka (1979) assenyalen que l'efecte tòxic del dibromur d'etilè pot dur a la formació de protuberàncies acrosòmiques. Per altra banda, Bane i Nicander (1965) relacionen la presència de vacúols nuclears en els espermatozoides de l'ejaculat de mascles reproductors porcíns amb l'estrès produït quan són confinats a ambients humits i calorosos. La qualitat espermàtica dels ejaculats pot veure's alterada per factors genètics o per paràmetres com l'edat, la raça, el ritme d'extraccions, la temperatura ambiental, l'exposició a la llum, la humitat ambiental relativa, la nutrició, el maneig, etc. (Buxadé, 1984) (Vigil i col., 1986). A més, la qualitat espermàtica de les dosis seminals obtingudes per a la inseminació artificial depèn de la composició, pH i pressió osmòtica del diluent, del grau de dilució, de la velocitat de

refrigeració, de la temperatura de conservació i del tipus de substàncies bactericides utilitzades. Lancina (1980) demostra que l'epiteli germinatiu dels testicles del mascle reproductor porcí és molt sensible a les variacions produïdes en la dieta, en la temperatura ambiental i en l'activitat sexual. Jones (1975) classifica les malformacions espermàtiques observades en l'ejaculat en dos grans grups: les malformacions primàries, si s'originen en el testicle i es produeixen al llarg de l'espermatogènesi o de l'espermioogènesi, i les malformacions secundàries, si s'originen en l'epidídim i es produeixen al llarg del procés de maduració espermàtica. Segons Jones (1971), en mascles reproductors porcins de bona fertilitat, fins un 1% dels espermatozoides epididimaris presenten malformacions primàries i, en conseqüència, del 2% de les malformacions gamètiques observades a l'ejaculat, un 1% són primàries i l'altre 1% són malformacions secundàries.

3. LES ABERRACIONS ESPERMÀTIQUES.

La teratozoospermia és de gran interès per a la biologia de la reproducció porcina (Cameron, 1985) i, per aquest motiu, tot seguit s'assenyalaran alguns aspectes relacionats amb les malformacions gamètiques observades en l'ejaculat de *Sus domesticus*. Els espermatozoides amb anomalies que afecten la forma del cap presenten, generalment, bona motilitat (Guraya, 1987). Barth i col. (1992) assenyalen, però, que els espermatozoides amb el cap estret determinen una disminució de la fertilitat. Fawcett i col. (1971) han estudiat els possibles orígens de les malformacions gamètiques que afecten la forma del cap (piriforme, estret, afusat i arrodonit). Segons aquests autors, la forma del cap d'un espermatozoide pot veure's modificada per: (a) la deformació irreversible que pot arribar a provocar la cèl.lula de Sertoli sobre l'espermàtida al llarg de l'espermioogènesi, (b) la disposició anòmala de la "manchette" microtubular que recobreix el nucli de l'espermàtida, i (c) la condensació cromatínica anòmala en l'espermàtida. Cran i col. (1982), després d'estudiar espermatozoides de toros, assenyalen que la forma en U o cilíndrica dels caps pot produir-se al llarg de l'espermioogènesi, a partir d'una curvatura cefàlica molt intensa. Blom (1980) va suggerir que la presència de caps doblegats o enrotllats pot produir-se en espermatozoides macrocefàlics o amb el cap allargat. Segons aquest autor, les seccions del cap en què el nucli apareix amb forma circular corresponen a seccions transversals d'espermatozoides amb el cap gegant i doblegat. Per a Barth i Oko (1989), les seccions del cap en què apareixen dos nuclis poden ser interpretades com a seccions longitudinals de caps doblegats. Per altra banda, Baccetti i col. (1989)

suggereixen que les seccions del cap en què el nucli apareix circular o bé en les que apareixen dos nuclis poden ser interpretades com a seccions transversals o longitudinals, respectivament, d'espermatozoides afectats pel defecte "cràter". D'acord amb Fawcett i col. (1971) el defecte "cràter" es produeix per l'absència de la beina microtubular que envolta el nucli al llarg de l'espermioogènesi i per una agregació anòmala del DNA amb els complexos d'histones. Quan la malformació cefàlica afecta la curvatura del nucli, sigui a partir de caps gegants i doblegats o sigui donant lloc al defecte "cràter", l'acrosoma també s'observa danyat (Cran i col., 1982). D'acord amb aquests autors, la vesícula acrosòmica es troba atrapada dins la curvatura del nucli i està ocupada per un material granular i vesicular. Atenent a les observacions realitzades per Cran i col. (1982), els defectes "cràter" i "cap doblegat" es desenvolupen al llarg de l'espermioogènesi.

Es disposa de poques dades en relació a l'origen i al desenvolupament dels espermatozoides macrocefàlics i microcefàlics (Dujin, 1960). D'acord amb les dades de Barth i Oko (1989), la incidència d'espermatozoides microcefàlics en l'esperma ejaculada de toros amb fertilitat correcta no supera l'1% i, únicament quan s'afecta el procés espermatogènic, s'observa un increment d'aquest percentatge. Segons Guraya (1987) els espermatozoides amb anomalies que afecten la grandària del cap presenten motilitat correcta i acrosomes intactes. Hofmann i col. (1992) assenyalen: (a) que els espermatozoides bicefàlics es produeixen al llarg de l'espermioogènesi o per aglutinació espermàtica durant la maduració espermàtica, i (b) que la seva presència en l'ejaculat pot incrementar-se quan l'animal pateix processos inflamatoris.

Mashiach i col. (1992) indiquen que la ultraestructura dels components cefàlics de l'espermatozoide és un paràmetre excel·lent per determinar la capacitat fecundant "in vitro". En aquest sentit, la presència de nombroses malformacions acrosòmiques o nuclears serà indicativa d'una capacitat fecundant molt baixa. La vacuolització acrosòmica pot produir-se per una disfunció epididimària (Jones, 1971). La fertilitat del mascle reproductor porcí baixa considerablement quan la vacuolització acrosòmica afecta més del 2% dels espermatozoides de l'ejaculat (Jones, 1973). La presència d'elements vesiculars i fibrilars a l'interior de l'acrosoma ha estat descrita per Zamboni (1992). D'acord amb aquest autor, aquestes estructures vesiculars i fibrilars són d'origen golgià. En ejaculats de mascles reproductors porcíns, el percentatge d'espermatozoides amb vacuolització acrosòmica es troba entre l'1% i el 2%. D'acord amb Jones (1973), aquesta malformació es produeix en l'epidídim, i el percentatge augmenta a mesura que l'esperma avança per aquest conducte. Una altra malformació que pot afectar l'acrosoma és la presència de protuberàncies acrosòmiques. Segons Bane i Nicander (1966) la formació de protuberàncies acrosòmiques pot produir-se al llarg del procés espermiogènic i durant

l'elongació cefàlica de l'espermàtida. Aquestes protuberàncies acrosòmiques estan ocupades per elements vesiculars originats per la fusió de la membrana acrosòmica externa i la interna (Cran i Dott, 1976) o per la invaginació de la membrana acrosòmica interna (Jaskowski i Romanisk, 1959). Les protuberàncies acrosòmiques poden produir-se per causes genètiques o per agents ambientals (Barth i Oko, 1989). Buttle i Hancock (1965) van demostrar que l'esterilitat dels mascles afectats per aquesta malformació acrosòmica és deguda a un error en el procés d'interacció de l'espermatozoide i l'oòcit. L'origen dels vacúols nuclears es troba en l'espermatogènesi i pot ser conseqüència d'una invaginació de l'embolcall nuclear. Hrudka i Eljack (1979) assenyalen que en l'esperma dels bovins hom pot incrementar la presència de vacúols nuclears si els mascles són tractats amb bromur d'etilè, un líquid fumigant utilitzat per combatre els insectes. El percentatge d'espermatozoides amb vacúols nuclears pot veure's modificat, també, amb la freqüència d'extraccions de semen (Coulter i col., 1978). Truitt-Gibert i Johnson (1980) assenyalen que aquest defecte pot presentar-se en l'esperma de mascles sotmesos a elevades temperatures i confinats a ambients molt humits durant més de tres setmanes. La influència sobre la fertilitat dels toros d'una esperma rica en espermatozoides amb vacúols nuclears ha estat estudiada per Miller i col. (1982). Aquests autors han observat que, quan la vacuolització nuclear afecta el 80% dels espermatozoides ejaculats, la fertilitat disminueix fins al 18%. Les àrees nuclears molt pobres en cromatina (denominades també vacúols nuclears), a diferència dels vacúols nuclears descrits anteriorment, no estan limitades per membrana. La presència de nuclis amb àrees pobres en cromatina pot estar associada amb altres tipus de malformacions i, en aquest sentit, són habituals en els espermatozoides microcefàlics, en els de cap arrodonit i en els que tenen una vesícula acrosòmica incipient (Zamboni, 1992).

La malformació dels espermatozoides sense cua o sense cap pot ser provocada per la tècnica utilitzada en la preparació de les mostres i, en conseqüència, aquests espermatozoides poden ser considerats com a formes aberrants artefactuals (OMS, 1989). Boada i Ponsà (1987) assenyalen que la placa basal, estructura situada a la base del nucli, pot presentar deformacions que alteren l'estabilitat de la implantació de la cua. Segons Zamboni (1991), per un error bioquímic en la composició dels elements filamentosos que comuniquen el capitulum amb la placa basal, o la posició anòmala dels centriols durant l'espermogènesi poden ser la causa dels espermatozoides sense cap. D'acord amb Schill (1991), les cues isolades poden presentar bona motilitat. Segons aquest autor, el centriol distal és capaç d'originar una cua completa dotada de motilitat. Cooper i Pett (1984) assenyalen que el percentatge de caps isolats pot augmentar fins al 33% si els animals estan afectats per processos inflamatoris testiculars.

Swanson i Boyd (1961) assenyalen que l'origen dels espermatozoies afectats pel doblegament de la cua al nivell de l'anell de Jensen és epididimari. Els medis hipotònics indueixen la formació de cues doblegades. La secreció epididimària està controlada pels nivells de testosterona i, en conseqüència, un aïllament escrotal o una baixa activitat tiroidea poden conduir a la presència d'aquesta malformació espermàtica. Hancock (1956) observa que una de les modificacions que s'observen en l'espermatozoide a través del recorregut epididimari és la migració de la gota citoplasmàtica des de la posició proximal de la peça intermèdia a la posició distal. Segons Barth i Oko (1989), el procés migratori de la gota citoplasmàtica es fa en poc més d'un segon. Lindahl i Drevius (1964) observen en espermatozoides de toro amb gota citoplasmàtica distal que la cua es plega sobre si mateixa per l'anell de Jensen. S'han descrit diversos factors que poden provocar aquest tipus de malformació. Calving i col. (1975) i Blom i Wolstrup (1976) observen que les fibres denses es debiliten en presència d'un excés de zenc. Aquesta debilitació de les fibres pot conduir al doblegament de la cua i a la retenció de la gota citoplasmàtica. La lisi dels lisosomes presents en la gota citoplasmàtica retinguda conduirà a l'alliberament al citosol dels enzims digestius i, en conseqüència, a la desorganització dels elements citoesquelètics de la cua (Koefoed-Johnsen i Pedersen, 1971). Un medi hipotònic i un xoc tèrmic per refrigeració del semen poden ser, també, agents causals d'espermatozoides amb cua doblegada (Lindhal i Drevius, 1964). La criptorquídia també ha estat descrita per Ploen i Hakarsson (1978) com una malformació testicular que pot conduir a la formació d'espermatozoides amb cua doblegada. El desenvolupament d'espermatozoides amb cua doblegada o amb cua enrotllada es produeix al llarg del trajecte de l'esperma pel conducte epididimari (Holt, 1982) i, ambdues malformacions poden ser provocades en retardar-se l'extrusió de la gota citoplasmàtica (Kaplan i col., 1984). Jones (1975) assenyalava que les malformacions produïdes per doblegament o enrotllament de la cua són irreversibles i, que es produeixen per una tumefacció inicial originada per un estrés osmòtic que condueix a la mort del gàmeta. Hellander i col. (1991), a partir de les imatges de la microscòpia electrònica de transmissió, assenyalen que en els espermatozoides amb cua enrotllada pot comprovar-se l'absència de microtúbuls o la desorganització de l'eix axonemàtic. Hellmen i col. (1980) han suggerit que una possible causa de la presència d'espermatozoides amb cua enrotllada és un defecte en la composició química de la substància que cimenta les mitocòndries de la beina mitocondrial. La presència d'espermatozoides amb cua doblegada per la peça de connexió ha estat descrita per Zamboni (1992) i respon a una implantació excèntrica dels elements de la peça de connexió.

Barthelemy i col. (1990) descriuen espermatozoides de cua curta i localitzen aquesta malformació en biòpsies testiculars. Segons Barth i Oko (1989), durant l'espermiogènesi, la no supressió d'un dels centríols pot conduir al desenvolupament de dues cues. En canvi, per a Kojima i Kinoshita (1975), l'origen dels espermatozoides amb dues cues es troba en l'espermatogènesi i es deu a una errada en la supressió de la replicació centriolar.

Jones i Martin (1973) assenyalen que el primer signe de degeneració de la cua de l'espermatozoide pot ser observat en la beina mitocondrial. La tumefacció mitocondrial i la menor electrodensitat de la matriu mitocondrial són dos dels aspectes més rellevants d'aquest procés degeneratiu, que comporta la pèrdua de motilitat (Jones, 1975). La pèrdua de motilitat espermàtica ha estat relacionada amb disfuncions del sistema de peroxidació lipídica, localitzat a la beina mitocondrial (Rao i col., 1989). Les causes de la tumefacció mitocondrial poden ser l'envelliment cel.lular, disfuncions epididimàries o la criopreservació (Jones i Martin, 1973). La "pseudogota" descrita per Blomm (1968) correspon a la presència de mitocòndries entre la beina mitocondrial i la membrana plasmàtica. Aquest tipus de malformació augmenta amb l'edat dels mascles i redueix la motilitat espermàtica.

La integritat de l'axonema és fonamental per a la correcta motilitat de la cèl.lula. La desorganització axonemàtica fa que la cèl.lula esdevingui immòbil (Neugebauer i col., 1990). Aquesta desorganització es pot manifestar en l'absència de doblets perifèrics o de la parella de microtúbuls central o en l'absència de les altres estructures annexes, com els radis, les fibres de nexina o els braços de dineïna. Zamboni (1992) assenyalava que aquest tipus de malformació té base genètica, i que la desorganització axonemàtica és extensible a altres estructures cel.lulars com, per exemple, els cilis que revesteixen l'epiteli de la tràquea. Lindemann i col. (1992) assenyalen que l'estructura axonemàtica és molt sensible a les variacions de temperatura i, per aquest motiu, els espermatozoides sotmesos a altes o baixes temperatures poden presentar una estructura axonemàtica desorganitzada.

Es disposa de poques dades relacionades amb la presència de vesícules a la cua. Les vesícules observades per Kojima (1981) en la peça de connexió són, de fet, les làmines nuclears descrites per Guraya (1987). Segons Kojima (1981) les vesícules observades a la peça principal, prop de l'axonema, són restes del reticle endoplasmàtic que, si presenten un elevat desenvolupament, poden desplaçar els doblets núm. 5 i 6 de l'axonema.

Capítol 2:

ESTRUCTURA I

ULTRAESTRUCTURA DEL

CONDUCTE EPIDIDIMARI

MATERIAL i MÈTODES.

1. MATERIAL.

L'estudi estructural i ultraestructural del conducte epididimari ha estat realitzat a partir dels epidídims de dos mascles de raça Landrace, sans i sexualment madurs. En el moment del sacrifici l'edat dels mascles era de 30 i 36 mesos, i el pes en viu de 266 i 301 Kg, respectivament.

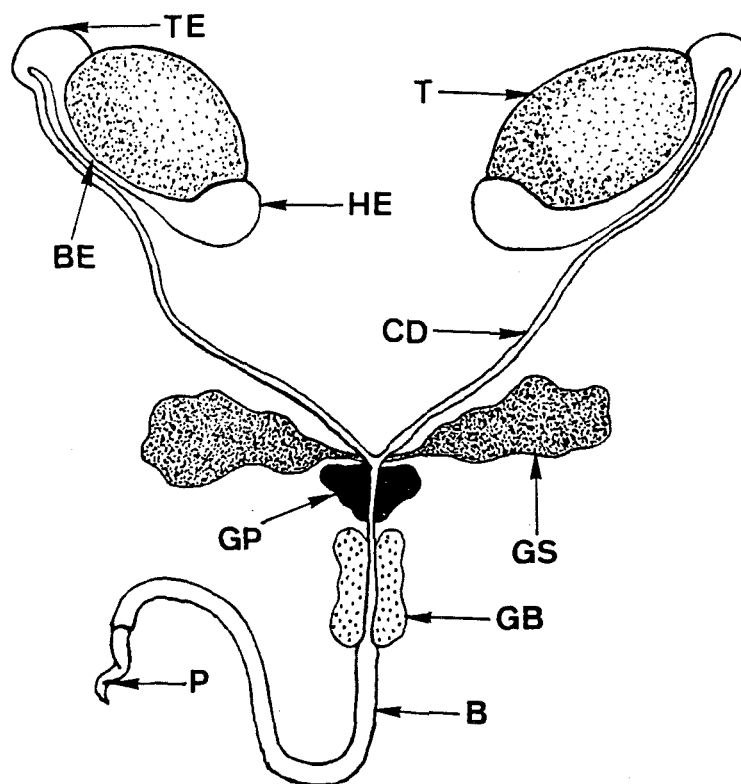
Els dos mascles, procedents d'un centre d'inseminació artificial, van ser sotmesos des dels 10 mesos d'edat a una freqüència d'extraccions de semen de dues per setmana amb períodes de repòs sexual de 15 dies cada tres mesos. Abans de ser sacrificats, els dos mascles van reposar sexualment durant 48 hores. Una vegada sacrificats, es va fer la dissecció dels dos mascles per tal de retirar-ne l'aparell genital. Tot seguit, l'aparell genital de cada mascle va ser dipositat en un recipient termoïllant i portat immediatament fins al laboratori, on van ser estesos en una taula de dissecció a fi de separar-ne els testicles i els epidídims (Esquema 1).

Els testicles i els epidídims van ser pesats en una balança Cobos D-4000SX de sensibilitat 0,1 g (Taula I). Finalment, es va procedir a l'obtenció de les mostres de l'epidídím, que van ser processades per a la seva observació al microscopi òptic i als microscopis electrònics de transmissió i d'escànnig. Les mostres es van extreure de les tres regions del conducte epididimari: caput (regió cefàlica o cap), corpus (regió corporal o cos) i cauda (regió caudal o cua) (Esquema 1).

El temps transcorregut entre l'extracció de l'aparell genital dels mascles en la sala de desfet de l'escorxador i l'inici del processat de les mostres d'epidídím al laboratori fou, aproximadament, d'uns 20 minuts.

TAULA I. Edat, pes corporal en viu i pes dels testicles dret i esquerre, i dels epidídims dret i esquerre de cada mascle.

<i>Característiques</i>	<i>Mascle no. 1</i>	<i>Mascle no. 2</i>
Edat (mesos)	30	36
Pes corporal en viu (Kg)	266	301
Pes testicle dret (g)	410	595
Pes testicle esquerre (g)	375	528
Pes epidídím dret (g)	106	158
Pes epidídím esquerre (g)	102	134



Esquema 1. Esquema que il·lustra les parts més significatives de l'aparell genital de mascles porcs sexualment madurs. **B**, beina; **BE**, corpus epididimari; **CD**, conducte deferent; **GB**, glàndula bulbouretral o de Cowper; **GP**, pròstata; **GS**, vesícula seminal; **HE**, caput epididimari; **P**, penis; **T**, testicle; **TE**, cauda epididimari.

2. MÈTODES.

A continuació es descriuen els mètodes utilitzats per al processat de les mostres per ser observades al microscopi òptic (MO), al microscopi electrònic de transmissió (MET) i al microscopi electrònic d'escànnig (MES).

2.1. Processat de les mostres d'epidídim per ser observades al Microscopi Òptic (MO).

El processat de les mostres per ser observades al MO s'ha fet d'acord amb el protocol descrit per Kiernan (1990).

- **Fixació:** Les mostres han estat fixades amb líquid de Bouin (solució aquosa saturada d'àcid pícric: 75 cc, formol al 40%: 20cc i àcid acètic glacial: 5cc) durant 24 hores.
- **Deshidratació:** Un cop rentades durant 24 hores més amb abundant aigua corrent, les mostres han estat deshidratades en sèrie alcohòlica creixent (etanol de 70°, 90°, 96° i 100°) i transferides a xilol.
- **Imbibició i inclusió:** La imbibició ha estat feta a l'estufa a 60°C amb Histosec de 56° a 58° pF (Merck, 11609) i la inclusió s'ha fet amb Histosec de les mateixes característiques a una temperatura de 4°C.
- **Microtomia:** Les seccions de les mostres, d'uns 7 µm de gruix, han estat obtingudes a partir d'un micròtom model Autocut (Reichert) amb ganivetes de carbur de tungstè.
- **Tinció:** Les seccions obtingudes han estat tenyides amb les tincions habituals Hematoxilina-Eosina i Tricòmic de Mallory, amb la tinció histoquímica P.A.Schiff-Blau d'Alcià per a la demostració de mucopolisacàrids neutres i àcids, respectivament, i amb la Impregnació Argèntica de Gomori per a la demostració de les fibres de col.làgena i reticulina.
- **Observació i microfotografia:** Les seccions tenyides han estat observades amb un MO de camp clar Zeiss Docuval i les microfotografies han estat efectuades amb pel.lícula per a diapositiva en color Ektachrome 160 ASA per a llum artificial de filament de tungstè.

2.2. Processat de les mostres d'epidídim per ser observades al Microscopi Electrònic de Transmissió (MET).

El processat de les mostres per ser observades al MET s'ha fet d'acord amb el protocol descrit per Hayat (1989).

- **Fixació:** Les mostres han estat rentades amb tampó fosfat de Sørensen 0,16M pH 7,2, fixades amb glutaraldehid al 2,5% en tampó fosfat durant 1 hora a 4°C, novament rentades amb tampó fosfat i postfixades amb tetraòxid d'osmi al 1% en aigua bidestil.lada durant 1 hora a 4°C.
- **Deshidratació:** Les mostres han estat rentades amb aigua bidestil.lada, processades en sèrie acetònica creixent (acetona de 50°, 70°, 90°, 96° i 100°) i transferides a òxid de propilè.
- **Imbibició i inclusió:** La imbibició de les mostres ha estat realitzada a 4°C, primer amb una barreja d'òxid de propilè i resina Spurr (1:1) durant 60 minuts i després en dos passos amb resina Spurr de 12 hores i 2 hores, respectivament. La inclusió ha estat realitzada amb resina epoxi Spurr de baixa viscositat ERL 4206 a 70°C (Spurr, 1969).
- **Ultramicrotomia:** Les seccions semifines, d'1 a 2 µm de gruix, i les seccions fines, d'uns 70 a 80 nm de gruix, han estat obtingudes a partir d'un ultramicròtom model Supernova (Reichert) amb ganivetes de vidre i de diamant Diatome 45°, respectivament.
- **Tinció i contrastació:** Les seccions semifines han estat tenyides amb Blau de Toluídina al 1% en borax (borat sòdic) durant 1 o 2 minuts a 85°C (Santander, 1968). Les seccions fines han estat contrastades amb acetat d'uranil i citrat de plom (Reynolds, 1963).
- **Observació i micrografia:** Les seccions semifines tenyides han estat observades amb un MO de camp clar Zeiss Docuval i les microfotografies han estat efectuades amb pel.lícula per a diapositiva en color Ektachrome 160 ASA (tungstè). Les seccions fines contrastades han estat observades amb un MET Hitachi H-7000 i les micrografies han estat efectuades amb plaques Kodak 4489.

2.3. Processat de les mostres d'epidídim per ser observades al Microscopi Electrònic d'Escànnig (MES).

El processat de les mostres per ser observades al MES s'ha fet d'acord amb el protocol descrit per Pottu-Boumendil (1989).

- **Fixació:** Les mostres han estat rentades amb tampó fosfat de Sørensen 0,16M pH 7,2, fixades amb glutaraldehyd al 2,5% en tampó fosfat durant 2 hores a 4°C. Un cop rentades amb abundant tampó fosfat, han estat postfixades amb tetraòxid d'osmi al 1% en aigua bidestil.lada durant 2 hores a 4°C.
- **Deshidratació:** Les mostres han estat rentades amb aigua bidestil.lada, processades en sèrie alcohòlica creixent (etanol de 50°, 70°, 90°, 96° i 100°) i transferides a acetat d'isoamil.
- **Dessecació i metal.lització:** Les mostres han estat dessecades pel mètode del punt crític en un dessecador Polaron E-3000, muntades sobre suports d'alumini i metal.litzades en un sistema Sputtering Bio-Rad SC-510 amb recobriment d'or de 50 nm de gruix.
- **Observació i micrografia:** Les mostres metal.litzades han estat observades amb un MES Hitachi S-570 i les micrografies han estat efectuades amb pel.lícula 120 Ilford HP5.

RESULTATS.

1. ESTRUCTURA.

El conducte epididimari, independentment de la regió que travessa, presenta una estructura histològica bàsica comuna: un epitelí pseudoestratificat amb esterocilis, envoltat d'una beina músculo-conjuntiva. En cada regió, però, el conducte epididimari presenta uns valors específics pel que fa a diàmetre intern, alçada de l'epitelí i longitud dels esterocilis (Làmina I: Figs. 1, 2 i 3) (Taula II). El diàmetre intern del conducte epididimari disminueix gradualment des de 215 μm en el caput fins a 175 μm en el cauda. L'alçada de l'epitelí del conducte epididimari, excloent-ne els esterocilis, és aproximadament igual en les dues primeres regions (43-46 μm) i lleugerament inferior en el cauda (37 μm). La longitud dels esterocilis és màxima en el caput (13 μm) i mínima en el corpus (7 μm) (Làmina II: Figs. 1, 3 i 5). Hi ha altres característiques que també permeten distingir si el conducte epididimari travessa el caput, el corpus o el cauda. La màxima densitat d'esterocilis s'observa en la regió corporal (Làmina II: Figs. 1, 3 i 5). La beina músculo-conjuntiva està més desenvolupada en el cauda, però més vascularitzada en el caput i el corpus. (Làmina I: Figs. 6 i 7). El lumen del conducte epididimari està ocupat per esperma i cèl.lules somàtiques. Les cèl.lules somàtiques luminals són mononucleades i es distingeixen de les cèl.lules germinals per la seva forma esfèrico-ovoidal (aprox. 6 μm de diàmetre), l'elevada relació nucleoplasmàtica i l'aspecte granular del citoplasma (Làmina I: Fig. 5). Les cèl.lules somàtiques, encara que molt escasses, on són més nombroses és en el cauda (Làmina I: Figs. 4 i 5).

TAULA II. Característiques histològiques del conducte epididimari en les tres regions (caput, corpus i cauda) de l'epidídim.*

Característiques	Regió Epididimària		
	CAPUT	CORPUS	CAUDA
Diàmetre intern del conducte (μm)	215,8 \pm 22,3	205,0 \pm 19,5	175,2 \pm 14,6
Alçada de l'epitelí sense esterocilis (μm)	42,8 \pm 2,2	45,8 \pm 3,9	37,4 \pm 2,6
Longitud dels esterocilis (μm)	12,6 \pm 0,5	6,7 \pm 1,0	9,0 \pm 2,0

* Les dades, exposades com a mitjana \pm desviació típica, representen les 50 mesures efectuades per a cada característica i regió epididimària estudiada.

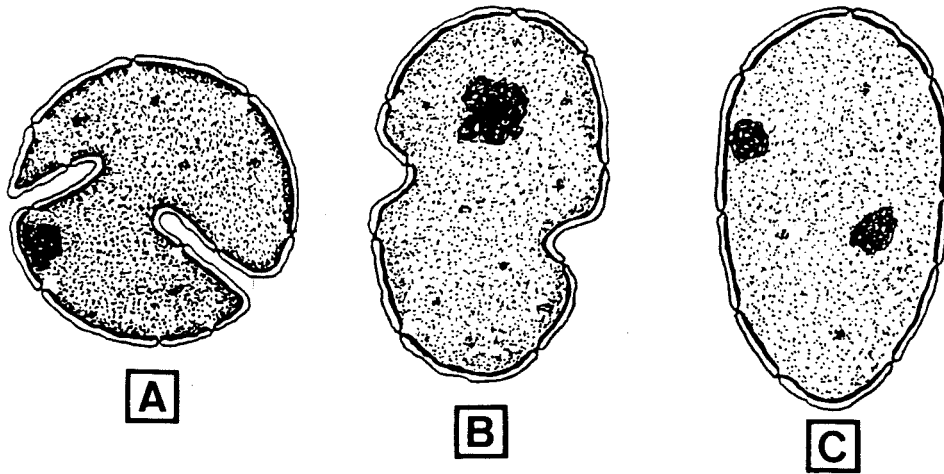
Al llarg de les tres regions epididimàries es poden trobar fins a cinc tipus cel·lulars epitelials: les cèl·lules principals, les cèl·lules basals, les cèl·lules clares, les cèl·lules estretes i les cèl·lules basòfiles. Les cèl·lules principals, les més nombroses en les tres regions epididimàries, són columnars, de citoplasma lleugerament acidòfil i amb esterocilis, i tenen un nucli oval de cromatina laxa en què destaquen un o dos nuclèols molt desenvolupats (Làmina II: Fig. 6). Les cèl·lules basals, distribuïdes de forma homogènia al llarg del conducte epididimari, descansen sobre la làmina basal i no arriben a la superfície lliure, són piramidals, el citoplasma és molt escàs i semblant al de les cèl·lules principals, el nucli és arrodonit i la cromatina laxa. Les cèl·lules clares, estretes i basòfiles són més nombroses en la regió caudal de l'epidídim que en les regions cefàlica i corporal i es disposen en l'epiteli entre les cèl·lules principals. Les cèl·lules clares són prismàtiques, el citoplasma té escassa afinitat pels colorants acidòfils i basòfils, el nucli és lleugerament allargat i la cromatina més condensada que en les cèl·lules principals (Làmina II: Fig. 4). Les cèl·lules estretes són prismàtiques i molt primes i destaquen per la seva elevada basofília citoplasmàtica (Làmina II: Fig. 2). Les cèl·lules basòfiles són arrodonides, es poden trobar a qualsevol alçada de l'epiteli entre les cèl·lules principals i el seu citoplasma és molt reduït i basòfil (Làmina I: Fig. 4). En cap de les tres regions de l'epidídim s'han observat cèl·lules epitelials PAS + i Blau d'Alcià +, responsables de secrecions mucoses neutres o àcides, respectivament.

2. ULTRAESTRUCTURA.

2.1. Cèl·lules Principals. (Esquema 4).

Les cèl·lules principals són prismàtiques i s'estenen des de la membrana basal, a la qual s'adhereixen per hemidesmosomes, fins a la superfície lliure de l'epiteli. El nucli de la cèl·lula principal pot trobar-se a qualsevol alçada, encara que acostuma a prendre posicions medio-basals (Esquema 2). El nucli de posició basal és arrodonit, presenta profundes invaginacions de l'embolcall nuclear, disposa d'una cromatina laxa i homogèniament distribuïda, i d'un únic nuclèol adherit a l'embolcall nuclear (Làmina III: Figs. 1 i 2) (Esquema 2). El nucli de posició medial és oval, les invaginacions de l'embolcall nuclear no són tan profundes i el nuclèol es fa més prominent i se separa de l'embolcall nuclear (Làmina III: Fig. 3) (Esquema 2). El nucli de posició medio-apical és oval, perd les

invaginacions de l'embolcall nuclear i el nuclèol es fa encara més prominent o bé se n'observa més d'un (Làmina III: Fig. 4) (Esquema 2).



Esquema 2. Esquema que mostra tres estadis del desenvolupament del nucli de les cèl·lules principals. En un primer estadi (A), el nucli, que ocupa una posició basal, és arrodonit i amb profundes invaginacions de l'embolcall nuclear i presenta un únic nuclèol adherit a l'embolcall nuclear. En un segon estadi (B), el nucli, que ocupa una posició medial, és lleugerament oval i les invaginacions de l'embolcall nuclear no són tan profundes i estretes com en l'estadi anterior. El nuclèol es fa més voluminós i es desprèn de l'embolcall nuclear. En el darrer estadi (C), el nucli, que ocupa una posició medio-apical, és oval, no presenta invaginacions de l'embolcall nuclear i, sovint, s'observa més d'un nuclèol.

En el citoplasma supranuclear i medio-apical d'aquestes cèl·lules s'observen abundants grànuls de secreció, mitocondries i cisternes del reticle endoplasmàtic llis. Aquests orgànuls cel·lulars es troben agrupats formant uns conjunts que segueixen un procés morfogènètic molt característic (Esquema 3). En una primera fase, les cisternes del reticle endoplasmàtic es reuneixen formant diverses unitats de 3 a 4 files de cisternes disposades concèntricament (Làmina III: Fig. 5) (Esquema 3). En una fase següent, cadascuna d'aquestes unitats creix per l'aposisió externa de més cisternes, per l'addició de mitocondries intercalades entre les cisternes i per l'aparició, en el centre d'aquestes unitats, de grànuls de secreció de matriu granular, homogènia i lleugerament electrodensa (Làmina III: Fig. 6) (Esquema 3). Quan aquestes unitats sintetitzadores arriben al diàmetre màxim, uns 8 μm , els grànuls de secreció es disposen en el centre geomètric i són coberts per més de 8 capes de cisternes del reticle endoplasmàtic, entre les quals es disposen nombroses mitocondries (Làmina III: Fig. 7) (Esquema 3). Progressivament, i amb la finalitat d'alliberar els grànuls de secreció de les unitats

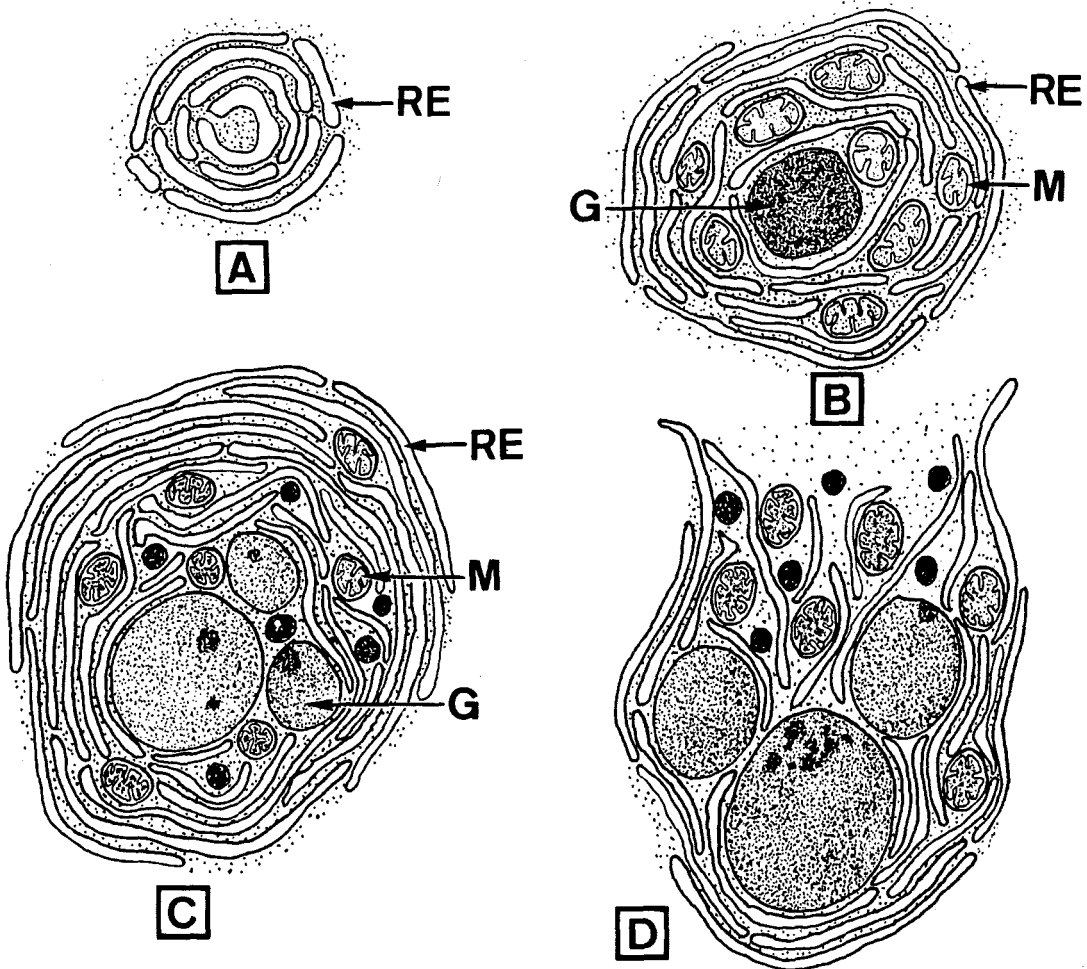
sintetitzadores, les cisternes del reticle endoplasmàtic es van separant i desembolicant (Làmina III: Fig. 8; Làmina IV: Fig. 1) (Esquema 3). Les mitocòndries alliberades són retingudes majoritàriament en el citoplasma perinuclear. Les cisternes del reticle endoplasmàtic inicien un procés de vesiculització i les vesícules resultants, juntament amb els grànuls de secreció alliberats, es dirigeixen cap al citoplasma medio-apical (Làmina III: Fig. 9). En la regió medio-apical, els grànuls de secreció redueixen gradualment el diàmetre i la seva matriu esdevé més homogènia i més electrodensa (Làmina IV: Fig. 2). Finalment, els grànuls de secreció es dirigeixen cap al citoplasma apical on s'emmagatzemen. En aquesta zona del citoplasma, els grànuls de secreció tendeixen a fusionar-se formant grànuls de diàmetre progressivament més gran i de matriu menys electrodensa (Làmina IV: Fig. 3). Així doncs, en el desenvolupament dels grànuls de secreció hom pot distingir tres estadis. Els grànuls de secreció s'originen en les unitats sintetitzadores. Dins d'una unitat sintetitzadora desenvolupada es poden observar grànuls de secreció immadurs de dues classes: l'estadi més juvenil o grànuls de secreció no condensats i l'estadi menys immadur o grànuls de secreció condensats. Els grànuls de secreció no condensats són més voluminosos que els altres i tenen una matriu granular molt fina i lleugerament electrodensa. Els grànuls de secreció condensats tenen un diàmetre reduït i la seva matriu és homogènia i més electrodensa. Els grànuls de secreció condensats, un cop alliberats de les unitats sintetitzadores, es dirigeixen cap al citoplasma apical, on es descondensen a fi de formar els grànuls de secreció descondensats o estadi madur, caracteritzats per una matriu homogènia i molt clara. La superfície lliure de les cèl.lules principals es caracteritza per la presència de nombrosos esterocilis dirigits cap a la cavitat del conducte epididimari (Làmina IV: Fig. 4).

2.2. Cèl.lules Basals. (Esquema 4).

Les cèl.lules basals són piramidals, tenen un diàmetre a la base de 6,5 μm i una alçada màxima de 5,5 μm . No arriben a la superfície lliure de l'epiteli. Descansen sobre una membrana basal a la qual s'uneixen per hemidesmosomes. En alguns punts del recorregut de la membrana plasmàtica sobre la membrana basal hom pot observar figures d'endocitosi (Làmina IV: Fig. 5).

El nucli, isodiamètric (3,5 μm de diàmetre) amb profundes invaginacions de l'embolcall nuclear, és eucromàtic (cromatina laxa, finament granular i distribuïda homogèniament) i presenta un nuclèol voluminos, electrodens i associat a l'embolcall nuclear (Làmina IV: Fig. 6).

El citoplasma, moderadament electrodens, conté mitocòndries esfèrico-bacil·lars i cisternes de reticle endoplasmàtic llis i rugós (Làmina IV: Fig. 5).



Esquema 3. Esquema que mostra quatre estadis del desenvolupament de les unitats sintetitzadores de les cèl·lules principals. En un primer estadi (A), cada unitat sintetitzadora està constituïda per 3 o 4 capes de reticle endoplasmàtic (RE) disposades de forma concèntrica. En un segon estadi (B), la unitat sintetitzadora creix per aposició de noves cisternes del reticle endoplasmàtic i per addició de mitocòndries (M), alhora que, en el centre geomètric de la unitat sintetitzadora, apareixen grànuls de secreció (G). En l'estadi més evolucionat (C), una unitat sintetitzadora conté tres elements: les cisternes de reticle endoplasmàtic, les mitocòndries i els grànuls de secreció en diversos estadis de condensació del material matricial. El darrer estadi (D) es caracteritza per l'obertura distal de l'embolcall format per les cisternes del reticle endoplasmàtic i per l'alliberament dels grànuls de secreció cap a la zona medio-apical del citoplasma.

2.3. Cèl.lules Clares. (Esquema 4).

Les cèl.lules clares s'observen pàl.lides en microscòpia òptica després d'aplicar algunes tècniques habituals de tinció (Hematoxilina-Eosina o Tricròmic de Mallory). En microscòpia electrònica de transmissió, aplicant les tècniques habituals de contrast, les cèl.lules clares s'observen més electrodenses que les cèl.lules principals (Làmina IV: Figs. 7, 8 i 10). Disposades entre les cèl.lules principals, descansen sobre la membrana basal a la qual arriben mitjançant fines perllongacions citoplasmàtiques (Làmina IV: Fig. 7).

El nucli sol ocupar posicions medials i esdevé progressivament allargat (10 x 3,5 µm). El contorn nuclear és lleugerament fistonejat i hi apareix una invaginació que progressa fins a definir dos lòbuls nuclears asimètrics. L'eucromatina manté l'aspecte granular però esdevé més electrodensa que la de les cèl.lules principals. El nuclèol, molt desenvolupat, es desprèn de l'embolcall nuclear (Làmina IV: Figs. 8 i 9).

El citoplasma basal és electrodens i lleugerament vacuolitzat. El citoplasma perinuclear es troba molt vacuolitzat, conté abundants mitocondries esfèriques i alguns grànuls de secreció de matriu homogènia i electrodensa (grànuls de secreció condensats). El citoplasma medio-apical es caracteritza per la presència d'abundants elements vesiculars i alguns grànuls de secreció en diferents estadis del procés de maduració (Làmina IV: Fig. 10). En la porció citoplasmàtica apical, els grànuls de secreció madurs es fusionen per formar grans masses secretores que seran secretades mitjançant un procés de secreció apocrina que inclou els esterocilis (Làmina V: Figs. 1, 2 i 3). La morfologia del citoplasma apical d'una cèl.lula principal en l'estadi més madur és molt similar a la morfologia citoplasmàtica d'una cèl.lula clara. Probablement, la cèl.lula principal esdevé cèl.lula clara una vegada s'ha produït l'extrusió citoplasmàtica apical. En la cavitat del conducte epididimari, les grans masses citoplasmàtiques secretades plasmolitzen i alliberen el seu contingut entre l'esperma (Làmina V: Figs. 5 i 6). Algunes vegades, el procés secretor pot afectar prematurament les cèl.lules principals, donant lloc a un fenomen de secreció holocrina que comporta l'extrusió del nucli i de tot el contingut citoplasmàtic cap a la cavitat del conducte epididimari (Làmina V: Fig. 4).

2.4. Cèl.lules Estretes. (Esquema 4).

Les cèl.lules estretes són escasses i es troben disposades entre les cèl.lules principals. El diàmetre mitjà d'aquestes cèl.lules és de 4 o 5 µm; un diàmetre molt reduït si es compara amb el de les cèl.lules principals (8-9 µm) (Làmina V: Fig. 7).

El nucli, allargat i bilobulat, conté una eucromatina granular amb àrees heterocromàtiques electrodenses i disposades lliurement o associades a l'embolcall nuclear. El nuclèol, reduït, sol disposar-se adherit a l'embolcall nuclear (Làmina V: Fig. 7). El citoplasma es troba molt vacuolitzat i mostra, així, indicis d'una progressiva degeneració citoplasmàtica. Els vacúols, de diàmetre molt variat, presenten una matriu molt clara i estan disposats estretament dins d'un citoplasma escàs i molt electrodens (Làmina V: Fig. 7).

Hom pot observar tipologies cel.lulars intermèdies entre les descrites per a les cèl.lules basals, principals, clares i estretes.

2.5. Cèl.lules Basòfiles. (Esquema 4).

Les cèl.lules basòfiles són esferoidals, d'uns 4,5 µm de diàmetre, i es troben situades a diferents nivells entre les cèl.lules principals. Un dels fets més característics d'aquestes cèl.lules és l'elevada relació nucleoplasmàtica (Làmina VI: Fig. 1).

El nucli és esfèric i de contorn lleugerament sinuós. L'eucromatina és granular i electrodensa, hi destaquen àrees heterocromàtiques molt desenvolupades adherides a l'embolcall nuclear i disperses entre el nucleoplasma (Làmina VI: Figs. 1 i 2).

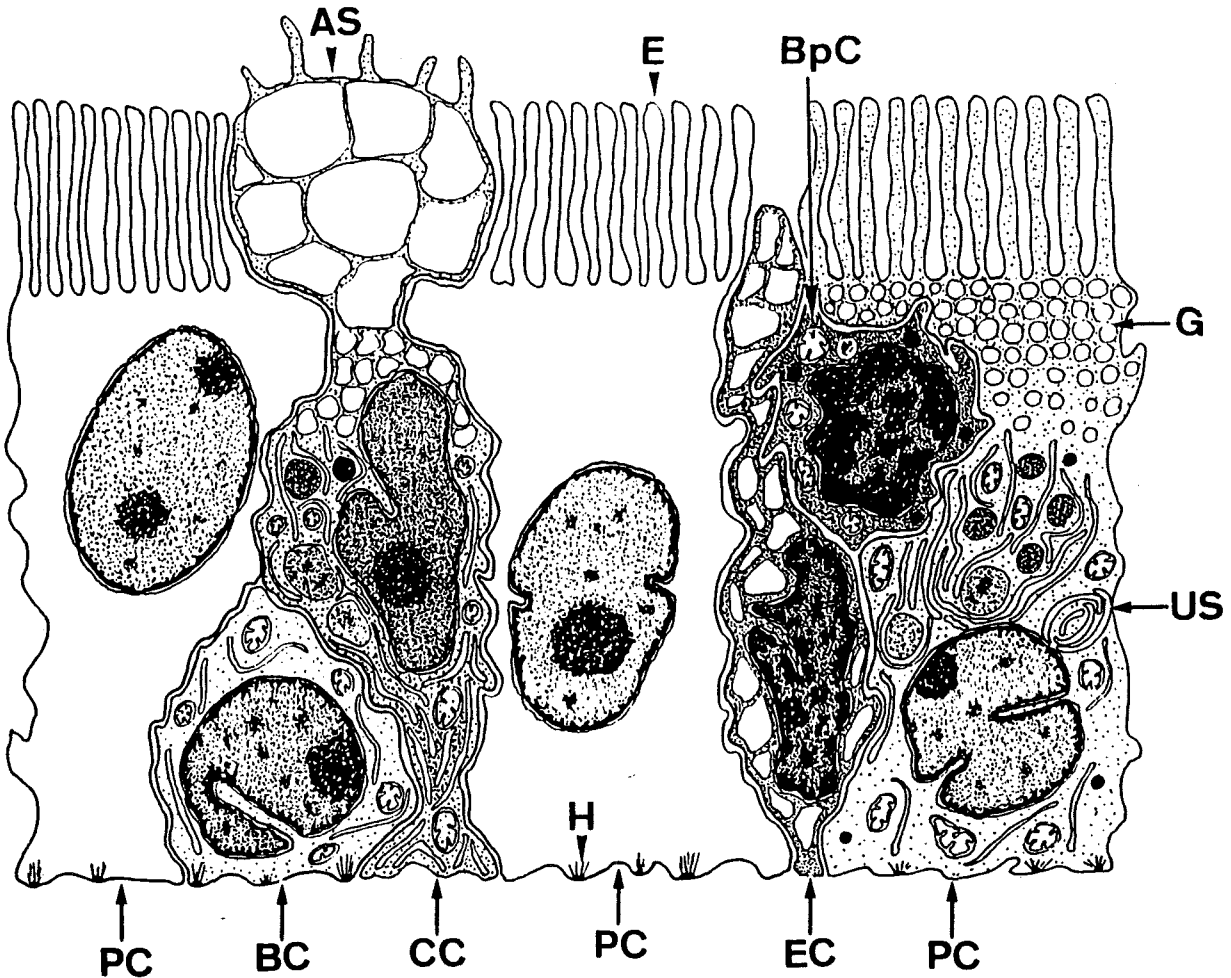
El citoplasma és molt escàs, conté mitòcondries esfèriques de matriu poc electrodensa, algunes cisternes del reticle endoplasmàtic rugós i alguns lisosomes primaris i secundaris. Les expansions citoplasmàtiques que presenten els serveixen per desplaçar-se entre les cèl.lules epitelials (Làmina VI: Fig. 2).

Hom pot observar cèl.lules basòfiles en la porció conjuntiva de la beina muscular més propera a l'epiteli (Làmina VI: Fig. 3) i en la llum del conducte epididimari, on poden apreciar-se figures de fagocitosi.

2.6. Beina músculo-conjuntiva.

La beina músculo-conjuntiva, molt més desenvolupada en la regió caudal de l'epidídim, està formada per dues capes de teixit muscular llis: una capa interna o longitudinal, més desenvolupada, i una capa més externa o circular, menys desenvolupada. Entre les cèl.lules musculars llises es poden observar unions estretes (Làmina VI: Fig. 4). El teixit conjuntiu intrínsec de la beina esdevé més fibrós o dens en la regió caudal del conducte epididimari. En la regió cefàlica de l'epidídim, les fibres de

col.làgena, tot i ser abundants, no formen vertaders feixos. En la regió caudal, les fibres de col.làgena es disposen densament formant feixos compactes que, fins i tot, poden provocar intenses deformacions i invaginacions de la cèl.lula muscular (Làmina VI: Figs. 5 i 6). Entre el teixit conjuntiu de la beina hom pot trobar vasos sanguinis, fonamentalment capilars, els quals són particularment abundants en la regió cefàlica de l'epididim.



Esquema 4. Esquema que mostra l'aspecte morfològic més representatiu dels cinc tipus cel.lulars presents a l'epiteli epididimari. La cèl.lula principal (PC) destaca per l'escassa electrodensitat del citoplasma i del nucli, així com per la presència d'esterocilis (E), unitats sintetitzadores (US) i grànuls de secreció (G). Les cèl.lules basals (BC) descansen sobre la membrana basal i no arriben a la superfície lliure de l'epiteli. Les cèl.lules clares (CC) destaquen per la presència de figures de secreció apocrina (AS). Les cèl.lules estretes (EC) presenten un citoplasma molt electrodens i vacuolitzat. Les cèl.lules basòfiles (BpC), situades a qualsevol nivell de l'epiteli, destaquen per l'elevada electrodensitat del nucli i del citoplasma, així com per l'elevada relació nucleoplasmàtica. Totes les cèl.lules, a excepció de les cèl.lules basòfiles, descansen sobre la membrana basal i s'hi adhereixen per hemidesmosomes (H).

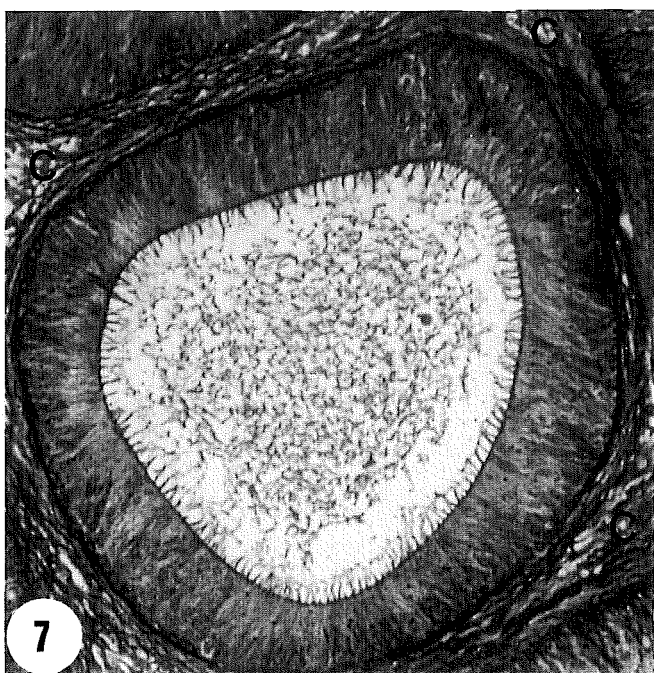
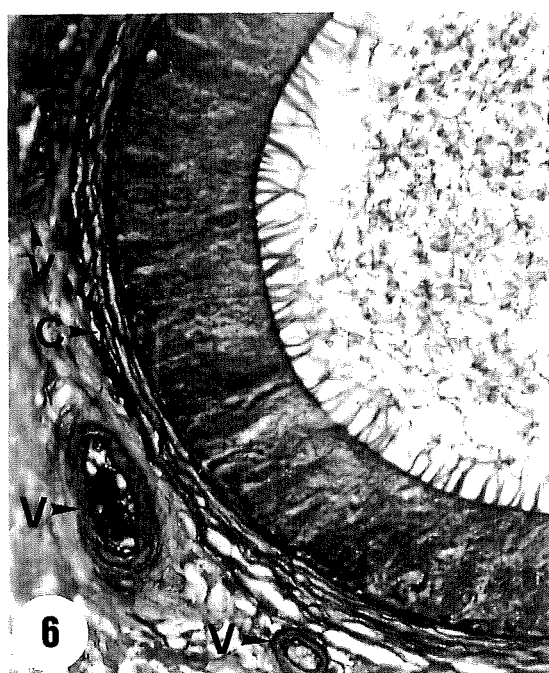
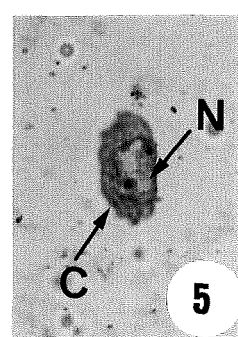
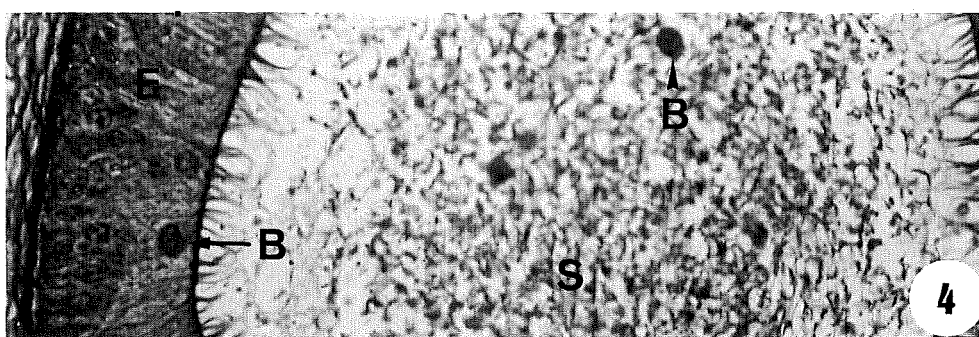
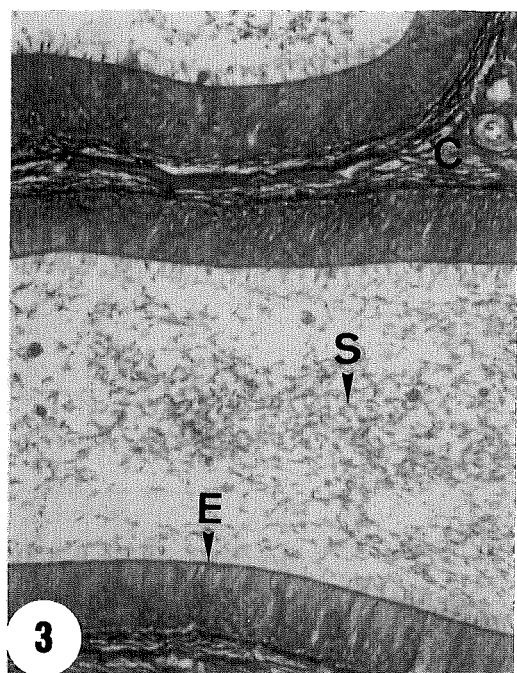
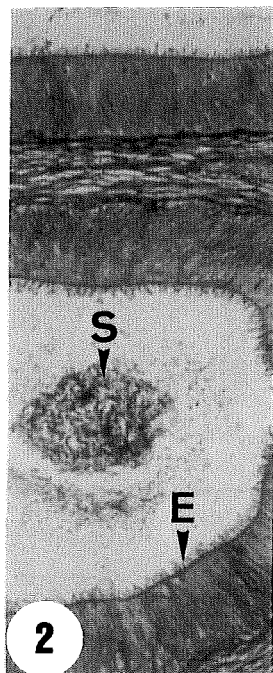
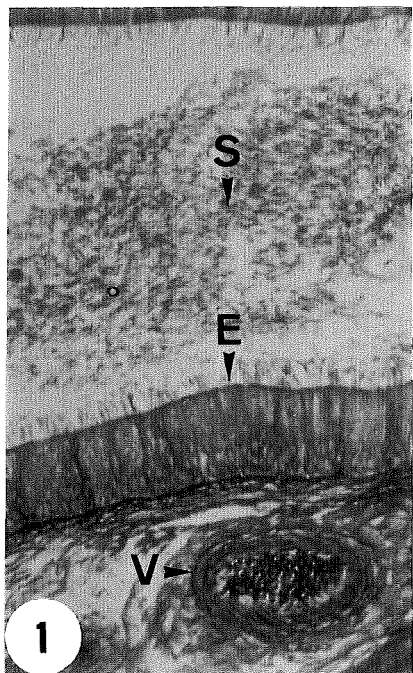


LÀMINA I

Figures: 1 a 7.

LÀMINA I.

- Fig. 1.** Secció transversal del conducte epididimari al seu pas per la regió cefàlica de l'epidídim. E, epiteli; S, esperma; V, vas sanguini (arteriola). *Impregnació Argèntica de Gomori.* 160 X.
- Fig. 2.** Secció transversal del conducte epididimari al seu pas per la regió corporal de l'epidídim. E, epiteli; S, esperma. *Impregnació Argèntica de Gomori.* 160 X.
- Fig. 3.** Secció transversal del conducte epididimari al seu pas per la regió caudal de l'epidídim. C, beina músculo-conjuntiva; E, epiteli; S, esperma. *Impregnació Argèntica de Gomori.* 160 X.
- Fig. 4.** Secció transversal del conducte epididimari al seu pas per la regió caudal de l'epidídim. Observeu la presència de cèl.lules basòfiles intraepiteliais i en la llum del conducte. B, cèl.lula basòfila; E, epiteli; S, esperma. *Tricròmic de Mallory.* 600 X.
- Fig. 5.** Cèl.lula basòfila en la llum del conducte epididimari al seu pas per la regió caudal de l'epidídim. Es pot apreciar l'elevada relació nucleoplasmàtica, la presència d'un nucli de cromatina molt fina i dos nuclèols molt desenvolupats. C, citoplasma; N, nucli. *Hematoxilina-Eosina.* 1200 X.
- Fig. 6.** Secció transversal del conducte epididimari al seu pas per la regió cefàlica de l'epidídim. En aquesta regió és molt freqüent observar una elevada vascularització de la beina músculo-conjuntiva. C, beina músculo-conjuntiva; V, vasos sanguinis. *Tricròmic de Mallory.* 400 X.
- Fig. 7.** Secció transversal del conducte epididimari al seu pas per la regió caudal de l'epidídim. En aquesta regió destaca l'elevat desenvolupament de la beina músculo-conjuntiva. C, beina músculo-conjuntiva. *Tricròmic de Mallory.* 300 X.

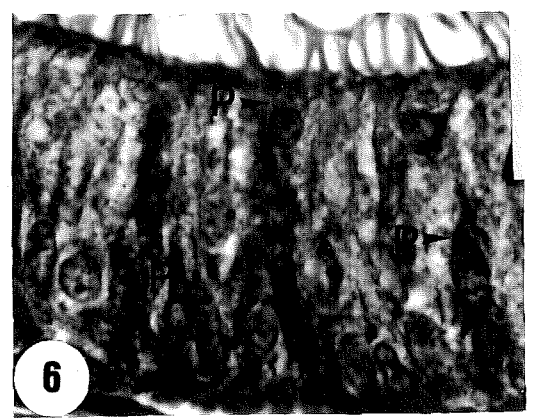
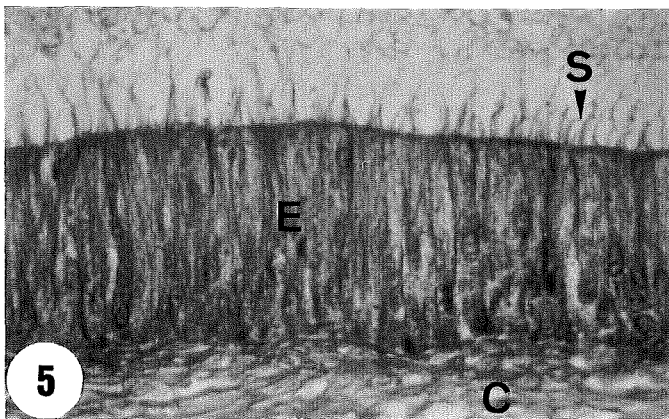
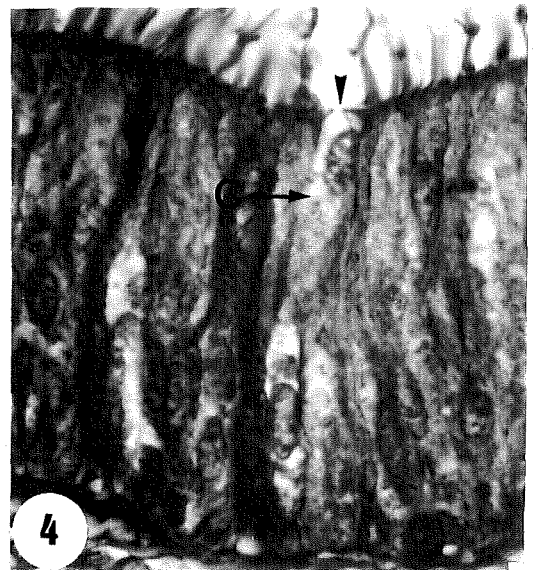
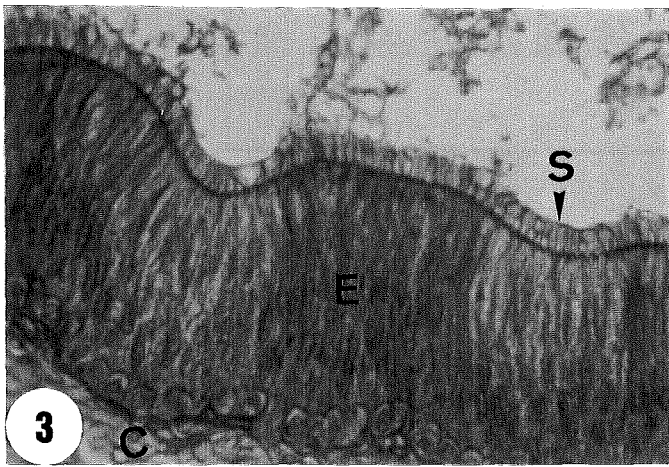
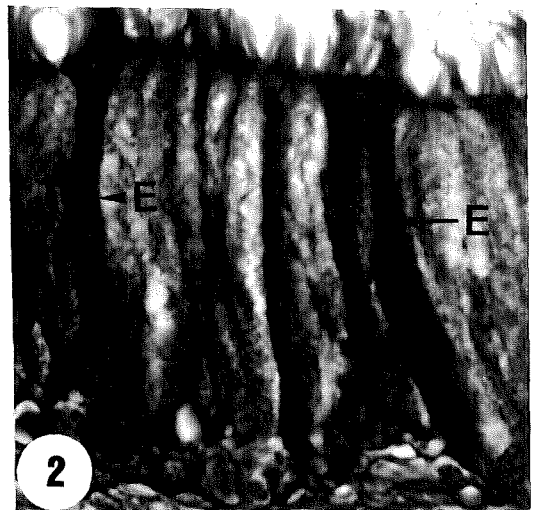
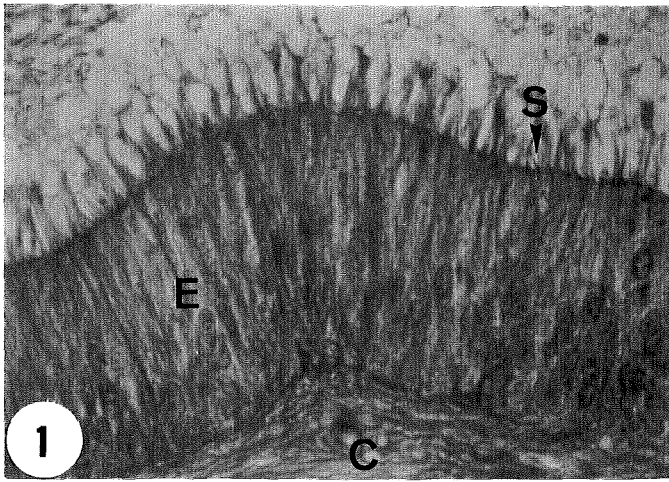


LÀMINA II

Figures: 1 a 6.

LÀMINA II.

- Fig. 1.** Epiteli del conducte epididimari al seu pas per la regió cefàlica de l'epidídim. Observeu la longitud i distribució dels esterocilis i l'alçada de l'epiteli. **C**, beina músculo-conjuntiva; **E**, epiteli; **S**, esterocilis. *Hematoxilina-Eosina*. 320 X.
- Fig. 2.** Epiteli del conducte epididimari al seu pas per la regió caudal de l'epidídim. Les cèl.lules estretes destaquen entre les cèl.lules principals per l'elevada afinitat tintorial del citoplasma i del nucli. **E**, cèl.lules estretes. *Tricròmic de Mallory*. 1500 X.
- Fig. 3.** Epiteli del conducte epididimari al seu pas per la regió corporal de l'epidídim. Observeu la longitud i distribució dels esterocilis i l'alçada de l'epiteli. **C**, beina músculo-conjuntiva; **E**, epiteli; **S**, esterocilis. *Hematoxilina-Eosina*. 320 X.
- Fig. 4.** Epiteli del conducte epididimari al seu pas per la regió corporal de l'epidídim. Les cèl.lules clares, distribuïdes entre les cèl.lules principals, presenten un citoplasma amb molt baixa afinitat tintorial. Algunes imatges suggereixen un mecanisme de secreció holocrina (vegeu la fletxa). **C**, cèl.lules clares. *Tricròmic de Mallory*. 1500 X.
- Fig. 5.** Epiteli del conducte epididimari al seu pas per la regió caudal de l'epidídim. Observeu la longitud i distribució dels esterocilis i l'alçada de l'epiteli. **C**, beina músculo-conjuntiva; **E**, epiteli; **S**, esterocilis. *Hematoxilina-Eosina*. 320 X.
- Fig. 6.** Epiteli del conducte epididimari al seu pas per la regió caudal de l'epidídim. Observeu la gran diversitat morfològica i posicional del nucli de les cèl.lules principals. **P**, cèl.lules principals. *Tricròmic de Mallory*. 1200 X.

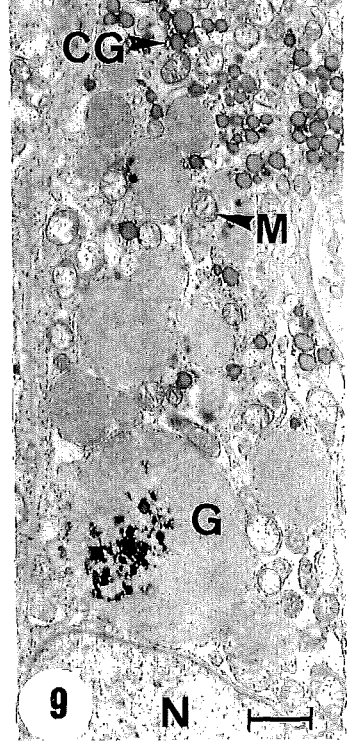
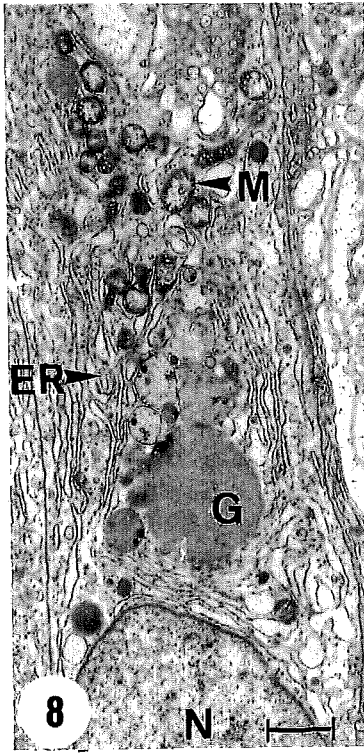
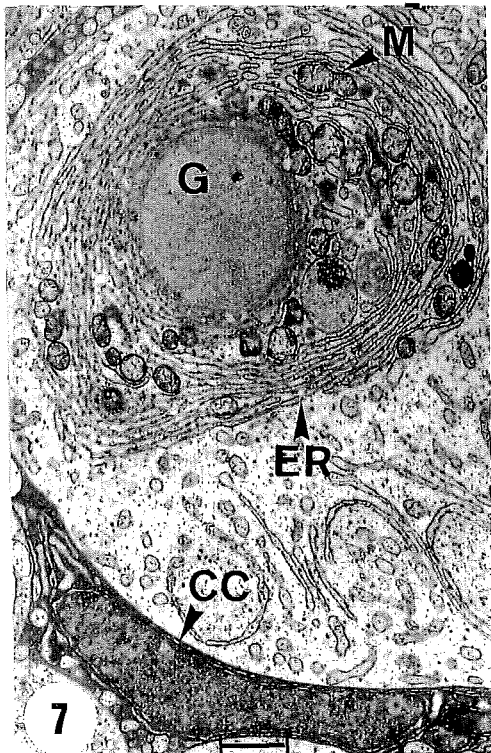
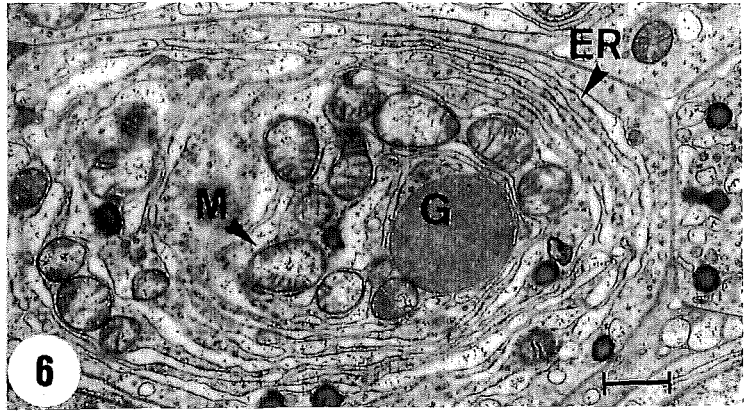
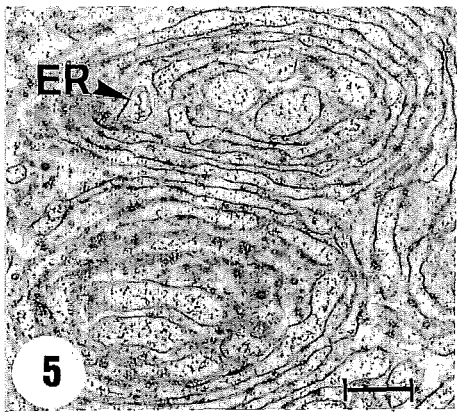
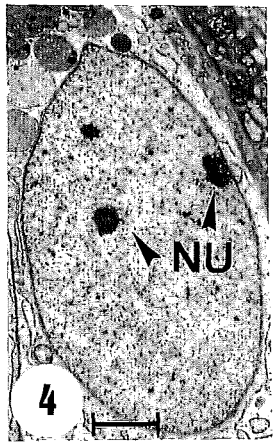
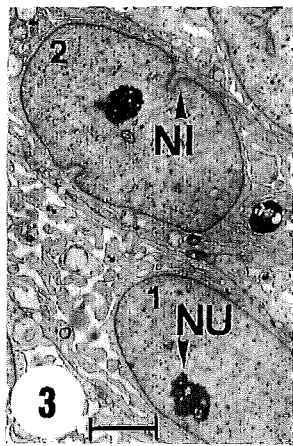
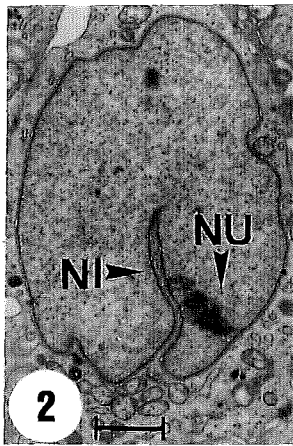
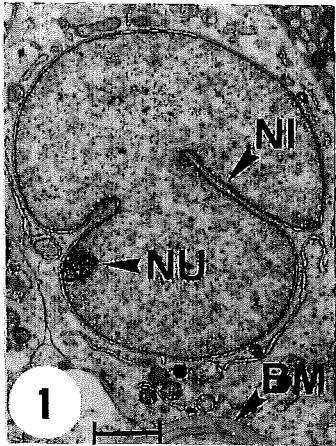


LÀMINA III

Figures: 1 a 9.

LÀMINA III.

- Fig. 1.** Nucli esfèric d'una cèl.lula principal en posició citoplasmàtica basal. Es poden apreciar les profundes i estretes invaginacions de l'embolcall nuclear, la textura fina i granular de la cromatina i la presència d'un únic nuclèol adherit a l'embolcall nuclear. **BM**, membrana basal; **NI**, invaginacions de l'embolcall nuclear; **NU**, nuclèol. Bar= 1,3 µm. 6100 X.
- Fig. 2.** Nucli pseudoesfèric d'una cèl.lula principal en posició citoplasmàtica basal. L'embolcall nuclear presenta una profunda invaginació i el nuclèol es troba allotjat en un lòbul nuclear, adherit a l'embolcall nuclear. **NI**, invaginació de l'embolcall nuclear; **NU**, nuclèol. Bar= 1,3 µm. 6100 X.
- Fig. 3.** Nuclis ovoidals de dues cèl.lules principals en posicions citoplasmàtiques medials (2) i medio-apicals (1). Les invaginacions de l'embolcall nuclear tendeixen a desaparèixer i el nuclèol es fa més voluminós i més electrodens. **NI**, invaginacions nuclears; **NU**, nuclèol. Bar= 2,3 µm. 3500 X.
- Fig. 4.** Nucli oval d'una cèl.lula principal en posició citoplasmàtica medio-apical. Les invaginacions de l'embolcall nuclear han desaparegut i s'observen dos nuclèols. **NU**, nuclèols. Bar= 1,6 µm. 5000 X.
- Fig. 5.** Citoplasma supranuclear d'una cèl.lula principal en què s'observen dues unitats secretores en un estadi inicial de desenvolupament. Cada unitat secretora està constituïda per 3 o 4 capes de reticle endoplasmàtic disposades concèntricament. **ER**, reticle endoplasmàtic. Bar= 0,5 µm. 16000 X.
- Fig. 6.** Unitat secretora d'una cèl.lula principal en què es poden observar els tres elements constituents: mitocondries, cisternes del reticle endoplasmàtic i grànuls de secreció. **ER**, reticle endoplasmàtic; **G**, grànuls de secreció; **M**, mitocondries. Bar= 0,6 µm. 13300 X.
- Fig. 7.** Unitat secretora madura d'una cèl.lula principal. **CC**, cèl.lula clara; **ER**, reticle endoplasmàtic; **G**, grànuls de secreció; **M**, mitocondries. Bar= 2 µm. 4000 X.
- Fig. 8.** Regió citoplasmàtica medio-apical d'una cèl.lula principal. Les cisternes del reticle endoplasmàtic es desemboliquen per la zona més apical de la unitat secretora i alliberen les mitocondries i els grànuls de secreció. **ER**, reticle endoplasmàtic; **G**, grànuls de secreció; **M**, mitocondries; **N**, nucli. Bar= 1,3 µm. 6100 X.
- Fig. 9.** Regió citoplasmàtica medio-apical d'una cèl.lula principal. S'observen els grànuls de secreció condensats i no condensats, alliberats de les unitats secretores. **CG**, grànuls de secreció condensats; **G**, grànuls de secreció no condensats; **M**, mitocondries; **N**, nucli. Bar= 1,1 µm. 7200 X.

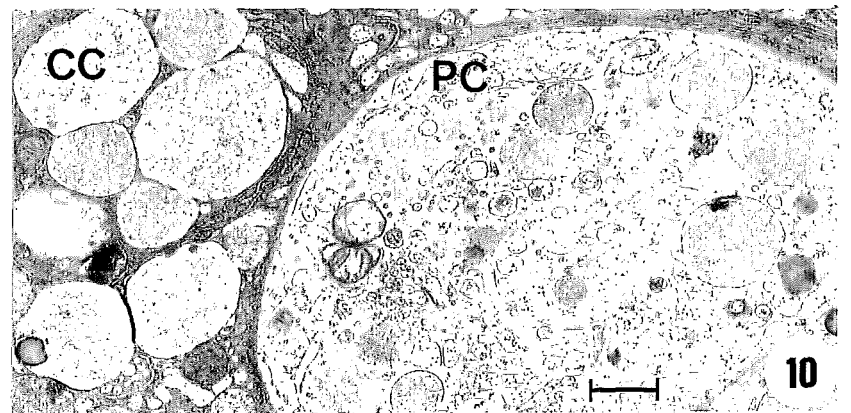
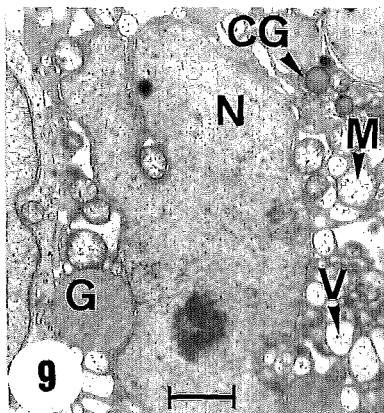
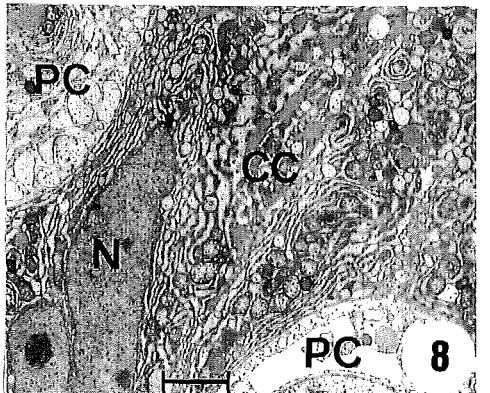
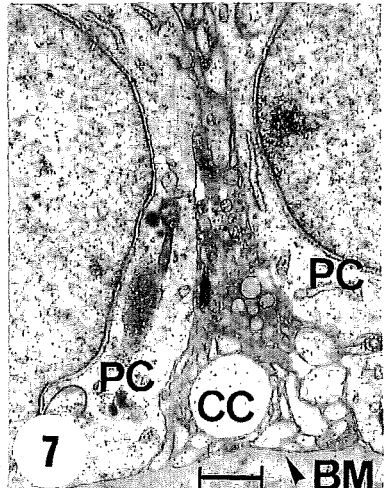
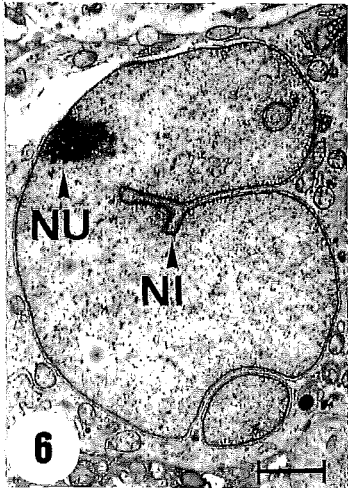
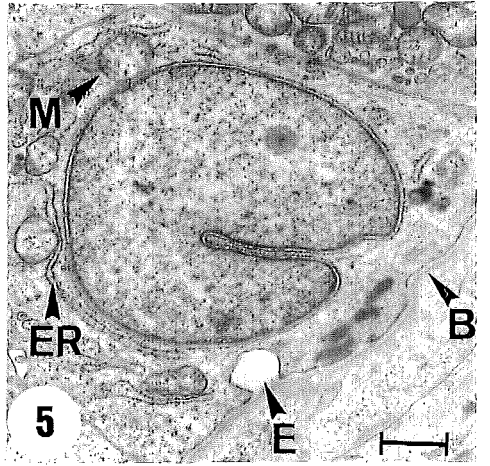
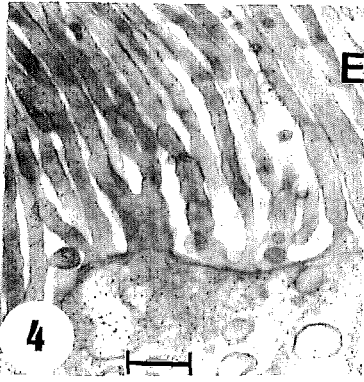
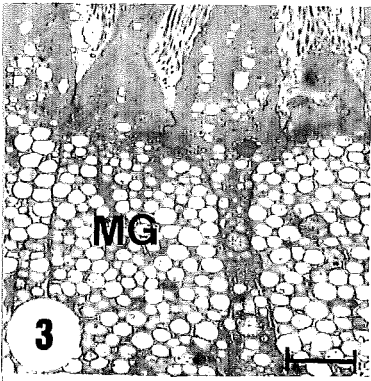
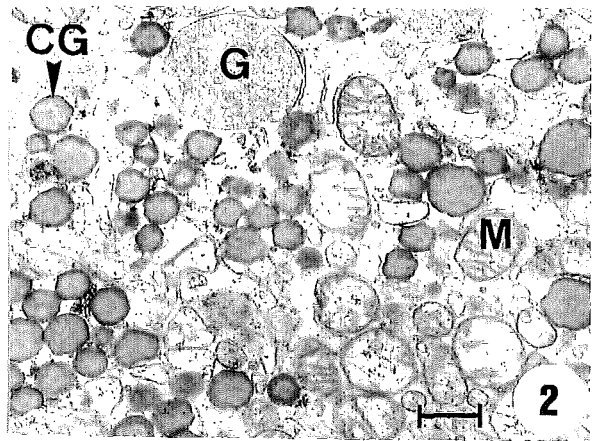
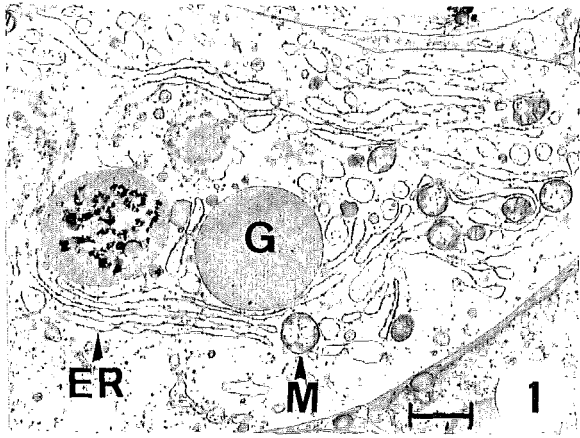


LÀMINA IV

Figures: 1 a 10.

LÀMINA IV.

- Fig. 1.** Unitat secretora d'una cèl.lula principal. Les cisternes del reticle endoplasmàtic es desemboliquen, les mitocondries i els grànuls de secreció abandonen les unitats secretores i els grànuls de secreció es dirigeixen cap al citoplasma apical. **ER**, reticle endoplasmàtic; **G**, grànuls de secreció; **M**, mitocondries. Bar= 1,2 µm. 6500 X.
- Fig. 2.** Aspecte del citoplasma apical d'una cèl.lula principal. Observeu l'acumulació majoritària de grànuls de secreció condensats i de matriu electrodensa, d'alguns grànuls de secreció no condensats i de mitocondries. **CG**, grànuls de secreció condensats; **G**, grànuls de secreció no condensats; **M**, mitocondries. Bar= 0,5 µm. 15800 X.
- Fig. 3.** Aspecte del citoplasma més apical d'una cèl.lula principal. Observeu la poca electrodensitat dels grànuls de secreció madurs originats per la fusió dels grànuls de secreció condensats. **MG**, grànuls de secreció madurs. Bar= 2,2 µm. 3600 X.
- Fig. 4.** Superfície apical d'una cèl.lula principal revestida d'esterocilis. **E**, esterocilis. Bar= 0,6 µm. 13300X.
- Fig. 5.** Aspecte general d'una cèl.lula basal. Observeu les profundes invaginacions de l'embolcall nuclear i les figures d'endocitosi. **B**, membrana basal; **E**, endocitosi; **ER**, reticle endoplasmàtic; **M**, mitocondries. Bar= 1,1 µm. 7300 X.
- Fig. 6.** Aspecte del nucli d'una cèl.lula basal. Observeu la profunda i ramificada invaginació de l'embolcall nuclear, i la presència d'un únic nuclèol adherit a aquest embolcall. **NI**, invaginació de l'embolcall nuclear; **NU**, nuclèol. Bar= 1,3 µm. 6200 X.
- Fig. 7.** Regió citoplasmàtica basal d'una cèl.lula clara entre dues cèl.lules principals. Aquesta regió del citoplasma ofereix un aspecte vacuolitzat i electrodens. **BM**, membrana basal; **CC**, cèl.lula clara; **PC**, cèl.lula principal. Bar= 1,1 µm. 7300 X.
- Fig. 8.** Regió citoplasmàtica medial d'una cèl.lula clara. Es pot apreciar un nucli bilobulat i asimètric i un citoplasma molt vacuolitzat que inclou reticle endoplasmàtic i mitocondries. Aquesta vacuolització és simptomàtica d'un procés cel.lular degeneratiu. **CC**, cèl.lula clara; **N**, nucli; **PC**, cèl.lula principal. Bar= 2,2 µm. 3600 X.
- Fig. 9.** Aspecte del nucli i del citoplasma perinuclear d'una cèl.lula clara. El citoplasma es caracteritza per la presència de vesícules, mitocondries, grànuls de secreció condensats i grànuls de secreció no condensats. Les vesícules provenen d'un procés degeneratiu de vesiculització del reticle endoplasmàtic. **CG**, grànuls de secreció condensats; **G**, grànuls de secreció no condensats; **M**, mitocondries; **V**, vacúols. Bar= 1,1 µm. 7300 X.
- Fig. 10.** Secció transversal de l'epiteli per la regió medio-apical del citoplasma d'una cèl.lula clara i d'una cèl.lula principal. Observeu el contrast que hi ha entre l'elevada electrodensitat citoplasmàtica de la cèl.lula clara i l'aspecte molt menys electrodens del citoplasma de la cèl.lula principal. **CC**, cèl.lula clara; **PC**, cèl.lula principal. Bar= 1 µm. 8000 X.

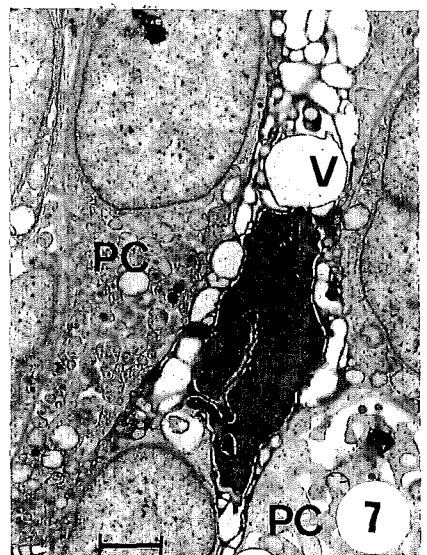
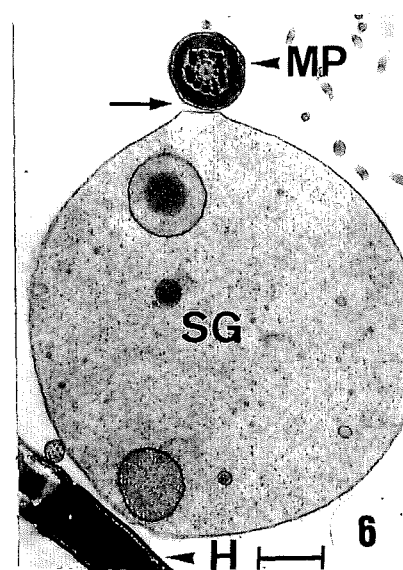
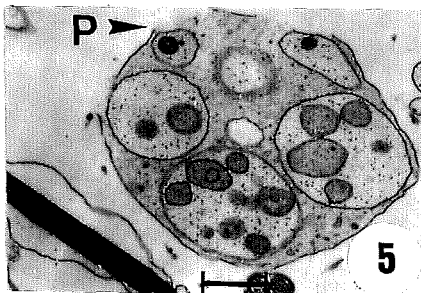
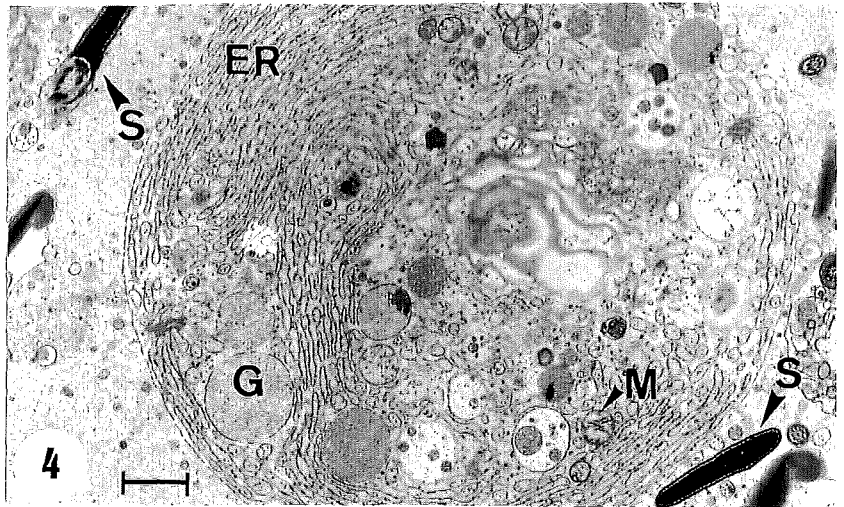
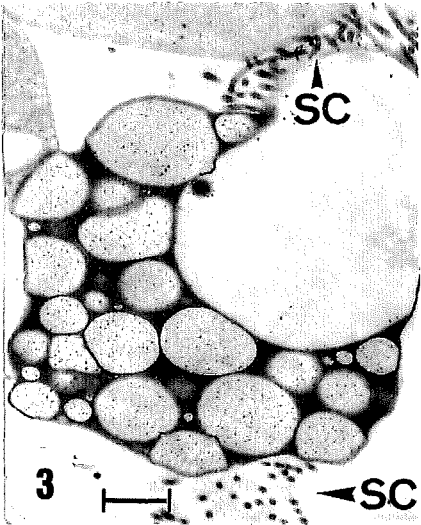
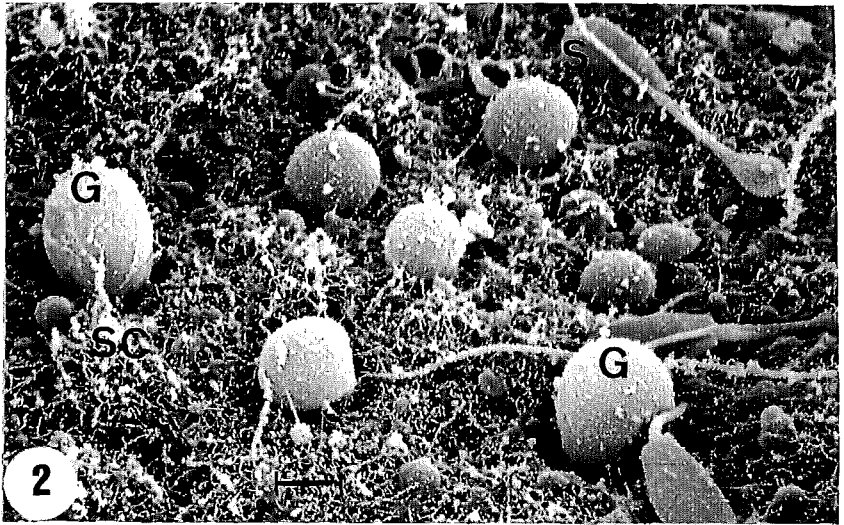
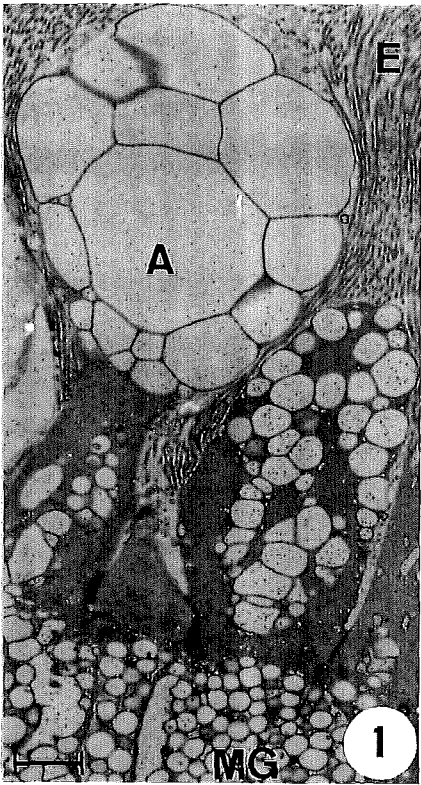


LÀMINA V

Figures: 1 a 7.

LÀMINA V.

- Fig. 1.** Secció longitudinal de la regió apical del citoplasma d'una cèl.lula clara. Observeu l'emmagatzemament dels grànuls de secreció madurs o descondensats en la regió citoplasmàtica medio-apical, així com la fusió dels grànuls en la regió més apical a fi de formar grans masses secretores que seran expulsades per un mecanisme de secreció apocrina. Aquest fenomen d'extrusió comporta la reducció i pèrdua d'esterocilis. **A**, secreció apocrina; **E**, esterocilis; **MG**, grànuls de secreció madurs. Bar= 2 µm. 4000 X.
- Fig. 2.** Aspecte de la superfície epitelial del conducte epididimari al seu pas per la regió caudal de l'epididim. Observeu l'extrusió apocrina de les masses secretores entre el revestiment dens d'esterocilis. **G**, masses secretores provinents de les cèl.lules clares per secreció apocrina; **S**, espermatozoides immadurs; **SC**, esterocilis. Bar= 3,6 µm. 2200 X.
- Fig. 3.** Aspecte d'una massa secretora acabada d'alliberar a la llum del conducte epididimari. Es pot observar l'aspecte altament vacuolitzat i electrodens del citoplasma, i la presència d'alguns esterocilis residuals, en general, d'escassa longitud. **SC**, esterocilis. Bar= 3,6 µm. 2200 X.
- Fig. 4.** Aspecte d'una unitat secretora alliberada a la llum del conducte epididimari. **ER**, reticle endoplasmàtic; **G**, grànuls de secreció immadurs no condensats; **M**, mitocondries; **S**, espermatozoides. Bar= 1 µm. 8000 X.
- Fig. 5.** Aspecte d'una massa secretora alliberada a la llum del conducte epididimari en què es pot observar la progressiva plasmòlisi i dissolució dels seus components. **P**, membrana plasmàtica. Bar= 0,8 µm. 10000X.
- Fig. 6.** Aspecte turgescents de les restes d'una massa secretora. Observeu el contacte entre la membrana plasmàtica de la massa secretora i la peça intermèdia d'un espermatozoide. **H**, secció longitudinal del cap d'un espermatozoide; **MP**, secció transversal de la peça intermèdia d'un espermatozoide; **SG**, restes turgescents d'una massa secretora. Bar= 0,5 µm. 16000 X.
- Fig. 7.** Secció longitudinal d'una cèl.lula estreta entre dues cèl.lules principals. El nucli és bilobulat, asimètric i molt electrodens. El citoplasma, enterament vacuolitzat, mostra un aspecte degeneratiu avançat. **N**, nucli; **PC**, cèl.lules principals; **V**, vacúols. Bar= 2 µm. 4000 X.

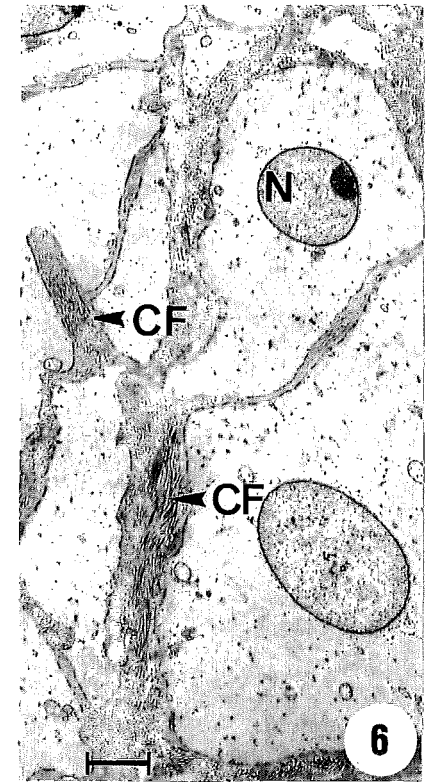
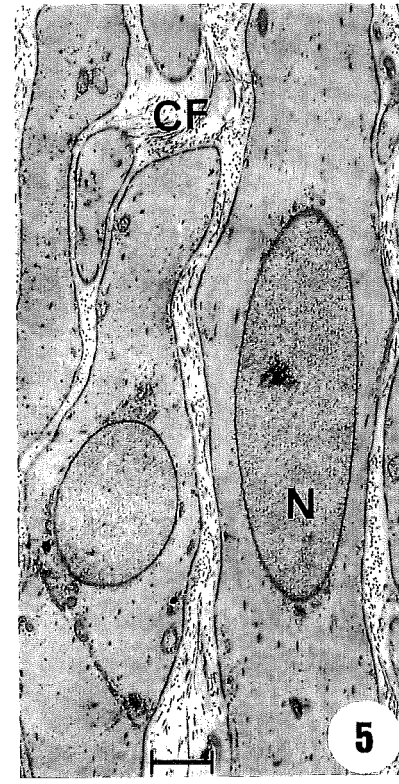
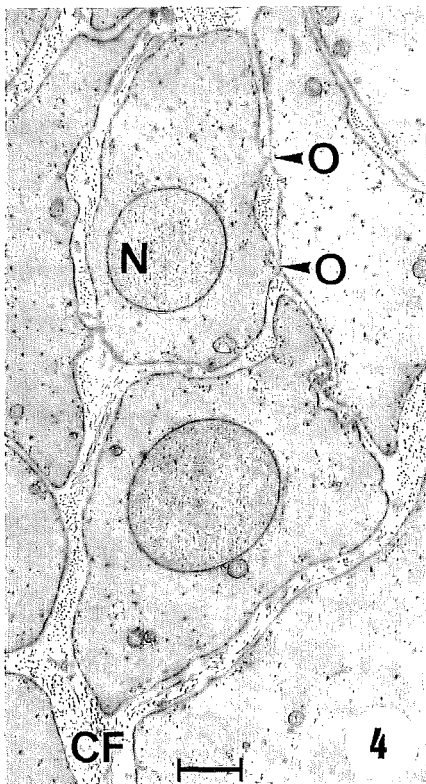
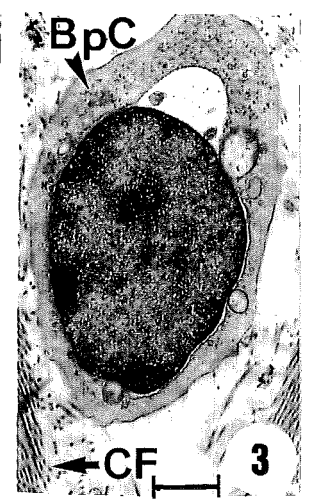
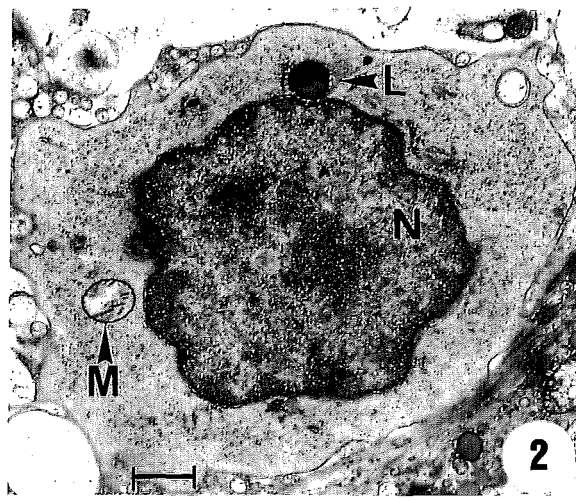
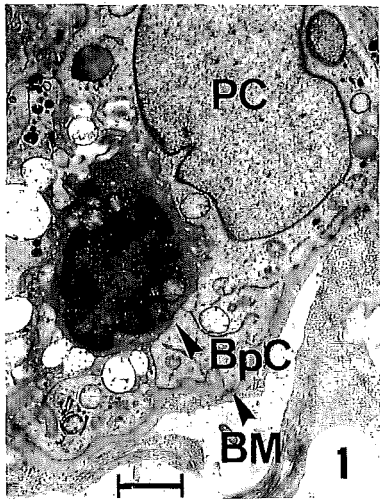


LÀMINA VI

Figures: 1 a 6.

LÀMINA VI.

- Fig. 1.** Cèl.lula basòfila allotjada a la regió basal de l'epiteli del conducte epididimari al seu pas per la regió caudal de l'epidídim. Observeu l'elevada electrodensitat del nucli i del citoplasma i les nombroses interdigitacions citoplasmàtiques. **BM**, membrana basal; **BpC**, cèl.lula basòfila; **PC**, cèl.lula principal. Bar= 1,6 µm. 5000 X.
- Fig. 2.** Cèl.lula basòfila en la regió medio-basal de l'epiteli del conducte epididimari al seu pas per la regió caudal de l'epidídim. **L**, lisosoma; **M**, mitocondria; **N**, nucli. Bar= 0,7µm. 11400 X.
- Fig. 3.** Cèl.lula basòfila en el teixit conjuntiu de la beina muscular del conducte epididimari al seu pas per la regió caudal de l'epidídim. **BpC**, cèl.lula basòfila; **CF**, fibres de col.làgena. Bar= 1,1 µm. 7300 X.
- Fig. 4.** Aspecte de les fibres musculars llises de la capa interna (o longitudinal) de la beina muscular del conducte epididimari al seu pas per la regió cefàlica de l'epidídim. **CF**, fibres de col.làgena; **N**, nucli; **O**, unions estretes. Bar= 1,3 µm. 6200 X.
- Fig. 5.** Aspecte de les fibres musculars llises de la capa externa (o circular) de la beina muscular del conducte epididimari al seu pas per la regió cefàlica de l'epidídim. **CF**, fibres de col.làgena; **N**, nucli. Bar= 1,8 µm. 4400 X.
- Fig. 6.** Aspecte de les fibres musculars llises de la capa interna (o longitudinal) de la beina muscular del conducte epididimari al seu pas per la regió caudal de l'epidídim. Observeu la formació de feixos de fibres de col.làgena molt desenvolupats que provoquen deformacions profundes de la cèl.lula muscular llisa. **CF**, fibres de col.làgena. Bar= 1,8 µm. 4400 X.



DISCUSSIÓ.

L'epidídim pot ser dividit en diverses regions segons les espècies estudiades i segons si els criteris utilitzats són anatòmics, morfològics, cito-histoquímics o bioquímics (Soler i col., 1991). La diversitat de criteris (Saitoh i col., 1990; Yeung i col., 1991), juntament amb les particularitats observades a cada espècie, fan que no es pugui disposar d'un patró general per a la divisió morfofuncional del conducte epididimari. En ratolins, Abe i col. (1983), i en bocs, Goyal i Williams (1991) i Sánchez i col. (1991), descriuen cinc segments. En rates, Reid i Cleland (1957), basant-se en la morfologia cel·lular de l'epiteli epididimari, descriuen sis segments. El mateix nombre de segments, encara que amb diferents característiques, ha estat descrit en toros i bous per Nicander (1957) i en cavalls per López i col. (1989). En cobais, Hoffer i Greenberg (1978), Hoffer i Karnovsky (1981) i Greenberg i Forssmann (1983), descriuen set segments. En hàrmsters, Flickinger i col. (1978), i en gats, Viotto i col. (1988), han descrit vuit segments. Malgrat aquestes diferències en el nombre i caracterització morfofuncional dels diversos segments de l'epidídim, tots els autors estan d'acord amb una classificació anatòmica que permet distingir, entre el testicle i el conducte deferent, tres regions epididimàries: regió cefàlica (cap o caput), regió corporal (cos o corpus) i regió caudal (cua o cauda) (Glover i Nicander, 1971; Cortadellas, 1991).

Les diferències en l'alçada de l'epiteli del conducte, incloent-hi els esterocilis, entre les tres regions de l'epidídim han estat estudiades en rosegadors per Flickinger i col. (1978), en humans per Grignon i col. (1981) i en bocs per Goyal i Williams (1991). Les dades d'aquests autors coincideixen amb les obtingudes en mascles porcins (*Sus domesticus*), i indiquen una progressiva disminució de l'alçada de l'epiteli des del caput al cauda epididimari. Wrobel i Fallenbacher (1974) van estudiar l'epiteli epididimari de mascles porcins adults al microscopi òptic i, dividint l'epidídim en sis segments, assenyalaren que l'alçada màxima de l'epiteli es dona en el primer segment.

La superfície total de membrana dels esterocilis és més gran en el caput i el corpus que en el cauda epididimari. Aquest fet pot explicar-se per la important funció absorbiva de les dues primeres regions de l'epidídim. Diversos estudis revelen que més d'un 90% del fluid procedent del testicle és reabsorbit pels conductes eferents i caput epididimari en toros i porcs (Crabo, 1965) i en rates (Turner, 1984). Dadoune (1981) va observar vesícules de micropinocitosi (vesícules revestides) a la base dels esterocilis de les cèl·lules principals de l'epiteli epididimari humà i establí, també, que més d'un 90% del fluid testicular és reabsorbit per l'epidídim en les dues primeres regions de l'epidídim.

El major desenvolupament de la beina músculo-conjuntiva en el cauda epididimari està relacionat amb la funció d'emmagatzemament d'esperma i amb la intensa contracció que s'hi dona en el moment de l'ejaculació. Les nombroses unions estretes observades entre les fibres musculars llises del cauda epididimari faciliten la transmissió de l'impuls constrictor entre les cèl.lules musculars i afavoreixen una contracció ràpida i sincronitzada de tota la beina muscular. El major desenvolupament de la beina músculo-conjuntiva en el cauda epididimari ha estat descrit també per Goyal i Williams (1991) en bocs.

La major vascularització del caput i corpus epididimaris s'explica per dues raons. Les activitats sintètica i secretora de l'epiteli epididimari en aquestes dues regions són molt superiors a les del cauda, fet que provoca que els requeriments de metabolits, precursors dels productes sintetitzats, siguin també molt superiors. Per altra banda, Cooper (1986) demostrà que: (a) la vascularització del cauda epididimari és independent de les dues primeres regions, i que, (b) el control del procés de secreció epididimària es fa via hormonal per la presència o absència d'andrògens testiculars que, essent secretats per les cèl.lules de Leydig del testicle i conduïts pels vasos sanguinis testiculars, arriben al caput i corpus epididimaris.

Soler i col. (1991), en un treball general sobre l'estructura de l'epiteli de l'epidídim dels mamífers, descriuen cinc tipus cel.lulars: les cèl.lules principals, les cèl.lules basals, les cèl.lules apicals, les cèl.lules clares o estretes i les cèl.lules que presenten halo. Per altra banda, Goyal i Williams (1991) descriuen quatre tipus cel.lulars generals (les cèl.lules principals, les cèl.lules basals, les cèl.lules apicals i les cèl.lules intraepiteliales) i altres tipus de cèl.lules específiques. Dins d'aquesta darrera modalitat hom pot destacar les cèl.lules clares descrites per Brown i Montesano (1981), Sun i Flickinger (1982) i Soranzo i col. (1982) en alguns rosegadors, i que no han estat descrites en l'epidídim dels cavalls, conills, monos, toros i bocs (Ramos i Dym, 1977; Hoffer i Greenberg, 1978; Jones i col., 1979; Goyal, 1985).

L'elevada activitat de síntesi i secreció proteïca i lipídica de les cèl.lules principals ha estat estudiada per Hoffer i Karnovsky (1981), Flickinger (1983 i 1985) i Flickinger i col. (1988). En quasi totes les espècies estudiades, una de les característiques més singulars de les cèl.lules principals és l'elevat desenvolupament del complex de Golgi i del reticle endoplasmàtic llis (Nicander, 1979; Fain-Maurel i col., 1981). Les unitats secretores observades en porcí correspondrien a una modificació del complex de Golgi i del reticle endoplasmàtic observat en altres espècies. Modificacions semblants a les descrites en porcí han estat observades també en rosegadors per Laszczynska i col. (1990) amb la denominació de cossos lamel.lars.

D'acord amb Soler i col. (1991), les cèl.lules apicals solen ser més abundants en la regió cefàlica de l'epididim. Al microscopi òptic, aquestes cèl.lules no sembla que arribin a la membrana basal i el seu aspecte és molt similar al de les cèl.lules principals. Segons Reid i Cleland (1957) hom pot considerar-les com un estadi morfofuncional de les cèl.lules principals. Les observacions realitzades per Abou-Haila i Fain-Maurel (1984) en l'epiteli epididimari de la regió cefàlica de l'epididim de ratolins, demostren la presència d'unes cèl.lules apicals caracteritzades per un citoplasma molt vacuolitzat i ric en mitocòndries. Aquest tipus de cèl.lules han estat descrites com a cèl.lules estretes per Hoffer i Greenberg (1978) i per Sun i Flickinger (1980).

Les cèl.lules clares, d'acord amb les observacions realitzades per Reid i Cleland (1957) i Sun i Flickinger (1979), es diferencien de les cèl.lules principals per l'elevat contingut de vesícules i el nucli allargat o oval. De fet, per a alguns autors (Risley, 1970; Kumar i col., 1980) hi ha dos tipus de cèl.lules clares en rates: les cèl.lules clares, pròpiament dites, i les cèl.lules estretes.

Vendrey (1981) va establir el percentatge de cèl.lules principals, basals i clares de l'epiteli epididimari humà, en un 59%, 27% i 10%, respectivament. Robaire i Hermo (1988) van observar, a més, una variació en el percentatge de cadascuna de les modalitats cel.lulars al llarg del conducte epididimari. A la regió cefàlica: 75% de cèl.lules principals, 13% de cèl.lules basals, 4% de cèl.lules clares i 8% de cèl.lules basòfiles; a la regió corporal: 70% de cèl.lules principals, 20% de cèl.lules basals, 6% de cèl.lules clares i 4% de cèl.lules basòfiles; i, a la regió caudal: 67% de cèl.lules principals, 17% de cèl.lules basals, 9% de cèl.lules clares i 7% de cèl.lules basòfiles.

D'acord amb Dadoune (1981), la funció de les cèl.lules basals és renovar la població de cèl.lules principals. L'elevat percentatge de cèl.lules basals és equivalent al de cèl.lules principals que han de ser renovades. El mecanisme de secreció apocrina és més traumàtic per a una cèl.lula que un mecanisme de secreció merocrina i aquest fet podria explicar la necessària i elevada taxa de renovació de les cèl.lules principals. La presència de cèl.lules clares riques en grans vesícules en la regió citoplasmàtica apical ha estat descrita també per Reid i Cleland (1957) en l'epididim dels rosegadors. Dadoune (1981) va observar que les cèl.lules clares són més nombroses en les dues primeres regions epididimàries que, de fet, són les regions secretores de l'epididim. El mecanisme de secreció holocrina descrit en porcí en algunes cèl.lules principals i clares, malgrat ser un procés atípic, també ha estat descrit per Martan i col. (1964) en l'epiteli epididimari humà. Segons aquests autors, el fenomen holocrí té lloc en cèl.lules sense esterocilis molt semblants a les cèl.lules principals. Ocasionalment, aquestes cèl.lules es desprenen senceres de l'epiteli i s'incorporen a la llum del conducte. Martan i col. (1964) afegeixen que aquestes cèl.lules

de secreció holocrina reaccionen positivament a pH 1 amb l'àcid periòdic de Schiff i amb el Blau d'Alcià. La presència de cèl.lules situades a la superfície lliure de l'epiteli epididimari dels rosegadors ha estat descrita per Setty i Jehan (1977). Segons aquests autors, aquestes "cèl.lules apicals" s'originen a partir de les cèl.lules principals. La interpretació que les cèl.lules estretes són un estadi del procés degeneratiu de les cèl.lules principals ja va ser avançat per Flickinger i col. (1978) en l'epiteli epididimari dels rosegadors. De l'observació de l'epiteli epididimari de porcí es pot deduir que les anomenades cèl.lules basals, cèl.lules principals, cèl.lules clares i cèl.lules estretes són quatre estadis del desenvolupament d'un mateix tipus cel.lular. Segons aquesta hipòtesi, la cèl.lula piramidal basal creix fins arribar a l'estadi de cèl.lula principal. La cèl.lula principal desenvolupa els esterocilis i, a partir de la formació i desenvolupament de les unitats secretores, sintetitza i emmagatzema grànuls de secreció. Els grànuls de secreció van omplint progressivament la regió citoplasmàtica medio-apical de la cèl.lula fins que, en la porció més apical del citoplasma, els grànuls de secreció es fusionen formant grans masses secretores que provoquen una deformació d'aquesta porció citoplasmàtica. Aquesta deformació inclou la reducció del nombre i longitud dels esterocilis i dona lloc, així, a la típica morfologia d'una cèl.lula clara. La secreció apocrina de les cèl.lules clares comporta la pèrdua de les masses secretores emmagatzemades a la regió medio-apical. La cèl.lula clara perd longitud i diàmetre i es converteix en el que anomenem una cèl.lula estreta, és a dir, una forma cel.lular degenerativa.

La semblança entre les cèl.lules basòfiles observades a l'epiteli epididimari i els leucòcits ha estat descrita per Miller i Killian (1983) en l'epiteli epididimari dels rosegadors. Per altra banda, la presència de leucòcits en la beina músculo-conjuntiva ha estat descrita per diversos autors (Wang i Holstein, 1983; Soler i col., 1991) en l'epiteli epididimari humà. Aquestes cèl.lules basòfiles epitelials han estat anomenades "halo cells" per Cooper (1986) i la seva major presència en el cauda epididimari, tant en l'epiteli del conducte com en la seva cavitat, també ha estat descrita en l'epidídim humà per Martan i col. (1964). Les cèl.lules basòfiles de l'epiteli epididimari són, molt probablement, leucòcits procedents del teixit conjuntiu subjacent que s'obren pas entre les cèl.lules epitelials (Hoffer i col., 1973) i, en arribar a la superfície lliure de l'epiteli, es precipiten a la cavitat del conducte i es barregen entre l'esperma epididimari (Goyal, 1985). Barratt i col. (1990), utilitzant anticossos monoclonals per estudiar la distribució de les cèl.lules somàtiques al llarg de la llum del tracte genital masculí, han descrit la presència de linfòcits T i macròfags tant en l'epiteli com en la llum del conducte epididimari. Cal assenyalar que no és un fet infreqüent observar, entre l'esperma, cèl.lules somàtiques lliures i macròfags que inclouen cèl.lules gamètiques.

Capítol 3:

QUALITAT DE L'ESPERMA

EPIDIDIMÀRIA

MATERIAL I MÈTODES.

1. MATERIAL.

Per estudiar la qualitat de l'esperma epididimària de porcí s'han utilitzat mostres epididimàries de tres mascles Landrace de 28 mesos d'edat, sans i sexualment madurs, sotmesos des dels 10 mesos d'edat a dues extraccions de semen per setmana amb períodes de repòs sexual de 15 dies cada tres mesos. Abans de ser sacrificats, els tres mascles van reposar sexualment durant 48 hores.

Els epidídims d'aquests mascles han estat obtinguts immediatament després de sacrificar-los i han estat transportats al laboratori en un recipient termoïllant a 37°C. El temps transcorregut entre l'extracció dels epidídims a la sala de desfet de l'escorxador i l'obtenció de les mostres de l'esperma epididimària al laboratori ha estat d'uns 20 minuts. L'obtenció de l'esperma de cadascuna de les tres regions epididimàries s'ha aconseguit mitjançant la introducció de fines cànules en el conducte epididimari que han permès retirar l'esperma per capil.laritat.

2. MÈTODES.

La qualitat de l'esperma epididimària s'ha estudiat a partir de l'anàlisi de les característiques següents:

- 1) vitalitat espermàtica;
- 2) resistència osmòtica dels acrosomes;
- 3) estabilitat cefàlica dels espermatozoides;
- 4) morfologia espermàtica;
- 5) aberracions espermàtiques;
- 6) aglutinació espermàtica.

2.1. Mètode d'anàlisi de la vitalitat espermàtica.

El mètode utilitzat per determinar la vitalitat de l'esperma epididimària ha estat descrit per l'OMS (1989):

- 1) Barrejar una gota d'esperma amb dues gotes d'Eosina Y a l'1% en aigua destil·lada i deixar actuar durant 30 segons.
- 2) Afegir tres gotes de Nigrosina al 10% en aigua destil·lada i homogeneïtzar la mescla.
- 3) Col·locar una gota de la mescla en un portaobjectes, realitzar una extensió, deixar assecar i observar al microscopi òptic de camp clar.

Amb aquesta tècnica els espermatozoides vius prenen una tonalitat grisa i els espermatozoides morts agafen un color vermell-rosat (Làmina I: Fig. 3).

Les observacions han estat realitzades en un microscopi òptic Zeiss (Docuval) i, per a les microfotografies, s'ha utilitzat pel·lícula Ektachrome (160ASA) per a llum artificial de tungstè.

Per establir les freqüències absolutes d'espermatozoides vius i d'espermatozoides morts s'han observat un total de nou mostres, de 500 espermatozoides, corresponents a cadascuna de les tres regions epididimàries dels tres mascles estudiats (Taula I).

2.2. Mètode d'anàlisi de la resistència osmòtica dels acrosomes.

El mètode utilitzat per determinar la resistència osmòtica dels acrosomes ha estat descrit per Schilling i Vengust (1987). Per determinar la resistència osmòtica dels acrosomes cal preparar, prèviament, dues solucions aquoses de citrat sòdic, una isotònica de 300mOm (3,42g. de citrat sòdic dihidratat en 100 g de dissolució) i l'altra hipotònica de 150mOm (1,14g. de citrat sòdic dihidratat en 100 g de dissolució). El procediment que cal seguir és el següent:

- 1) Col·locar en dos flascons, A i B, la barreja següent:
 - A) 0,2 ml d'esperma + 3 ml de solució isotònica.
 - B) 0,2 ml d'esperma + 3 ml de solució hipotònica.
- 2) Incubar al bany maria a 39°C durant 15 minuts.
- 3) Col·locar una gota de cada flascó en un portaobjectes i observar, al microscopi de contrast de fases a 1000X, el dany produït als acrosomes (Làmina I: Figs. 1 i 2).

Les observacions han estat realitzades en un microscopi òptic Zeiss (Docuval). Per a les microfotografies s'ha utilitzat pel·lícula Ektachrome (160ASA) per a llum artificial de tungstè.

Per establir les freqüències d'espermatozoides amb l'acrosoma danyat i d'espermatozoides amb l'acrosoma no danyat s'han analitzat nou mostres de cada flascó, de 500 espermatozoides, corresponents a cadascuna de les tres regions epididimàries dels tres mascles estudiats (Taula II).

2.3. Mètode d'anàlisi de l'estabilitat cefàlica dels espermatozoides.

Per observar l'estabilitat cefàlica dels espermatozoides s'ha seguit el mètode utilitzat per estudiar la morfologia de l'esperma ejaculada al microscopi òptic de camp clar que ha estat descrit en el primer capítol d'aquesta memòria. Així doncs, les extensions d'esperma han estat tenyides seguint el mètode Panòptic Ràpid de QCA.

Les observacions han estat realitzades en un microscopi òptic Zeiss (Docuval) i, per a les microfotografies, s'ha utilitzat pel·lícula Ektachrome (160ASA) per a llum artificial de tungstè.

Per establir les freqüències absolutes d'espermatozoides amb el cap isolat i d'espermatozoides amb el cap normal s'han observat un total de nou mostres, de 500 espermatozoides, corresponents a cadascuna de les tres regions epididimàries dels tres mascles estudiats (Taula III).

2.4. Mètode d'anàlisi de la morfologia espermàtica i de les aberracions espermàtiques.

La morfologia espermàtica i les aberracions espermàtiques han estat estudiades al microscopi òptic de camp clar i als microscopis electrònics de transmissió i d'escànnig.

Per estudiar la morfologia i les aberracions espermàtiques al microscopi òptic s'ha seguit el mètode descrit en aquesta memòria per a l'estudi de la morfologia de l'esperma ejaculada, és a dir, el mètode Panòptic Ràpid de QCA i, a més, s'ha aplicat la tècnica clàssica de Papanicolaou i de Feulgen (Álvarez, 1989). Les observacions han estat realitzades en un microscopi òptic Zeiss (Docuval) i, per a les microfotografies, s'ha utilitzat pel·lícula Ektachrome (160ASA) per a llum artificial de tungstè.

Per determinar la morfologia espermàtica (establint les freqüències absolutes d'espermatozoides madurs, d'espermatozoides immadurs amb gota proximal, d'espermatozoides immadurs amb gota distal i d'espermatozoides aberrants), s'han observat un total de nou mostres, de 500 espermatozoides, corresponents a cadascuna de les tres regions epididimàries dels tres mascles estudiats (Taula IV).

Per determinar les aberracions espermàtiques (establint les freqüències absolutes de les diverses malformacions estudiades), s'han observat un total de tres mostres de 10000 espermatozoides, corresponents a cadascuna de les tres regions epididimàries. Les malformacions espermàtiques estudiades han estat les següents: (a) espermatozoides amb la cua doblegada per la peça de connexió, (b) espermatozoides amb la cua doblegada per la peça intermèdia, (c) espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen, (d) espermatozoides amb la cua doblegada per la peça principal, (e) espermatozoides amb la cua enrotllada, (f) espermatozoides amb dues cues fusionades, (g) espermatozoides macrocefàlics, i (h) espermatozoides microcefàlics (Taula V).

Per estudiar la morfologia i les aberracions espermàtiques als microscopis electrònics d'escànnig i de transmissió s'han seguit els mètodes descrits en aquesta memòria per a l'estudi de la morfologia de l'esperma ejaculada. Les mostres processades per a microscòpia electrònica d'escànnig han estat observades en un microscopi electrònic d'escànnig Hitachi S-570 del Servei de Microscòpia Electrònica de la Universitat Autònoma de Barcelona i, per a les micrografies, s'ha utilitzat pel·lícula Ilford 120HP5. Les mostres processades per a microscòpia electrònica de transmissió han estat observades en un microscopi electrònic de transmissió Hitachi HV 12A del mateix Servei i, per a les micrografies, s'han utilitzat plaques Kodak 4489.

2.5. Mètode d'anàlisi de l'aglutinació espermàtica.

El mètode utilitzat per observar l'aglutinació espermàtica ha estat descrit per Álvarez (1989):

- 1) Preparar una solució 1:100 d'esperma i diluent MR-A.
- 2) Col·locar una gota de la solució entre el portaobjectes i el cobreobjectes i observar al microscopi òptic de contrast de fases els diversos tipus d'aglutinació (aglutinació cap-cap, aglutinació cua-cua i aglutinació cap-cua).

Les observacions han estat realitzades en un microscopi òptic Zeiss (Docuval) i, per a les microfotografies, s'ha utilitzat pel·lícula Ektachrome (160ASA) per a llum artificial de tungstè.

Per establir les freqüències absolutes d'espermatozoides aglutinats i d'espermatozoides no aglutinats, s'han observat un total de nou mostres, de 500 espermatozoides, corresponents a cadascuna de les tres regions epididimàries dels tres mascles estudiats (Taula VI).

El tractament dels diversos recomptes efectuats per a cadascun dels paràmetres de la qualitat espermàtica (vitalitat espermàtica, resistència osmòtica dels acrosomes, estabilitat cefàlica, morfologia espermàtica, aberracions espermàtiques i aglutinació) s'ha fet de la forma següent:

- 1) Per determinar si hi ha diferències significatives entre les freqüències observades en l'esperma epididimària obtinguda a partir de cada mascle, aquestes han estat comparades utilitzant el test de la χ^2 de Pearson amb un nivell de significació de 0,01.
- 2) Si les diferències entre les freqüències observades en l'esperma epididimària dels tres mascles no són significatives, les freqüències observades per a cada regió epididimària dels tres mascles s'han sumat entre si.

Per determinar si hi ha diferències significatives entre les freqüències resultants, corresponents a cadascuna de les tres regions epididimàries, aquestes han estat comparades utilitzant novament el test de la χ^2 de Pearson amb un nivell de significació de 0,01.

TAULES DE MÈTODES

TAULA I. Vitalitat dels espermatozoides en les tres regions epididimàries de cada mascle (V, espermatozoides vius; M, espermatozoides morts).

Regió	CAP		COS		CUA	
	V	M	V	M	V	M
1	mostra 1		mostra 2		mostra 3	
	473	27	433	67	383	117
2	mostra 4		mostra 5		mostra 6	
	471	29	428	72	385	115
3	mostra 7		mostra 8		mostra 9	
	476	24	434	66	383	117
Total	1420	80	1295	205	1151	349
%	94,6	5,4	86,3	13,7	76,8	23,2

TAULA II. Resistència osmòtica dels acrosomes dels espermatozoides de les tres regions epididimàries de cada mascle sotmesos a un medi isotònic (300 mOsm) i a un medi hipotònic (150 mOsm) (N, acrosomes normals; D, acrosomes danyats).

Regió	CAP						COS						CUA					
	300 mOsm		150 mOsm		300 mOsm		150 mOsm		300 mOsm		150 mOsm		300 mOsm		150 mOsm			
Macle	N	D	N	D	N	D	N	D	N	D	N	D	N	D	N	D		
1	mostra 1		mostra 2		mostra 3		mostra 4		mostra 5		mostra 6		mostra 7		mostra 8			
	498	2	236	264	498	2	497	3	499	1	499	1	499	1	499	1		
2	mostra 7		mostra 8		mostra 9		mostra 10		mostra 11		mostra 12		mostra 13		mostra 14			
	497	3	253	247	499	1	496	4	500	0	498	2	498	2	498	2		
3	mostra 13		mostra 14		mostra 15		mostra 16		mostra 17		mostra 18		mostra 19		mostra 20			
	498	2	234	266	498	2	496	5	499	1	498	2	498	2	498	2		
Total	1493		723		1495		1489		1498		1495		1498		1495			
%	99,5		51,8		99,6		99,2		99,8		99,6		99,8		99,6			
	0,5		48,2		0,4		0,8		0,2		0,8		0,2		0,4			

TAULA III. Estabilitat cefàlca dels espermatozoides en les tres regions epididimàries de cada mascle (N, espermatozoides normals; I, espermatozoides amb el cap isolat).

Regió	CAP		COS		CUA	
	N	I	N	I	N	I
Mascle	mostra 1		mostra 2		mostra 3	
	488	12	492	8	467	33
2	mostra 4		mostra 5		mostra 6	
	488	12	489	11	468	32
3	mostra 7		mostra 8		mostra 9	
	485	15	491	9	466	34
Total	1461	39	1472	28	1401	99
%	97,4	2,6	98,1	1,9	93,4	6,6

TAULA IV. Morfologia dels espermatozoides en les tres regions epididimàries de cada mascle (M, espermatozoides madurs; IP, espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal; ID, espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal; A, espermatozoides aberrants).

Regió	CAP					COS					CUA				
	M	IP	ID	A		M	IP	ID	A		M	IP	ID	A	
1	mostra 1					mostra 2					mostra 3				
	256	231	0	13		238	0	254	8		429	0	49	22	
	mostra 4					mostra 5					mostra 6				
2	231	259	2	8		214	2	273	11		420	0	61	19	
	mostra 7					mostra 8					mostra 9				
	244	243	3	10		207	3	278	12		416	0	67	17	
Total	731	733	5	31		659	5	805	31		1265	0	177	58	
%	48,7	48,8	0,3	2,2		43,9	0,3	53,6	2,2		84,4	0,0	11,8	3,8	

TAULA V. Malformacions espermàtiques en les tres regions epididimàries (N, espermatozoides normals; A, espermatozoides aberrants).

Regió	CAP		COS		CUA	
	N	A	N	A	N	A
Malformació						
Cua enrotllada	mostra 1		mostra 2		mostra 3	
	9998	2	9988	12	9982	18
Dues cues fusionades	mostra 4		mostra 5		mostra 6	
	9997	3	9977	23	9968	32
Cua doblegada p. connexió	mostra 7		mostra 8		mostra 9	
	9883	117	9917	83	9888	112
Cua doblegada p. intermèdia	mostra 10		mostra 11		mostra 12	
	9934	66	9958	42	9967	33
Cua doblegada anell Jensen	mostra 13		mostra 14		mostra 15	
	9996	4	9997	3	9956	44
Cua doblegada p. principal	mostra 16		mostra 17		mostra 18	
	9983	17	9982	18	9982	18
Macrocefàlia	mostra 19		mostra 20		mostra 21	
	9995	5	9994	6	9992	8
Microcefàlia	mostra 22		mostra 23		mostra 24	
	9999	1	9998	2	9998	2

TAULA VI. Aglutinació espermàtica en les tres regions epididimàries de cada mascle (s, espermatozoides no aglutinats; p, espermatozoides aglutinats cap-cap; q, espermatozoides aglutinats cua-cua; r, espermatozoides aglutinats cap-cua; t, total d'espermatozoides aglutinats).

Regió	CAP						COS						CUA					
	s	p	q	r	t		s	p	q	r	t		s	p	q	r	t	
1	mostra 1						mostra 2						mostra 3					
	451	6	24	19	49		449	18	17	16	51		423	18	31	28	77	
	mostra 4						mostra 5						mostra 6					
2	461	5	22	12	39		443	11	23	23	57		438	12	30	20	62	
	mostra 7						mostra 8						mostra 9					
	466	9	18	7	34		444	15	15	26	56		439	15	25	21	61	
Total	1378	20	64	38	122		1336	44	55	65	164		1300	45	86	69	200	
%	91,8	1,3	4,2	2,5	8,2		89,0	2,9	3,6	4,3	10,9		86,6	3,0	5,7	4,6	13,3	

RESULTATS.

1. VITALITAT ESPERMÀTICA.

Les diferències en les freqüències absolutes d'espermatozoides vius i d'espermatozoides morts entre l'esperma epididimària dels tres mascles no són significatives ($p=0,8941$) (Taula i Gràfic I).

La vitalitat espermàtica, expressada com el percentatge d'espermatozoides vius, disminueix significativament al llarg del recorregut de l'esperma per les tres regions de l'epidídim ($p=0,0001$) (Taula II). A la regió cefàlica de l'epidídim la vitalitat espermàtica és d'un 94%, a la regió corporal és d'un 86% i a la regió caudal disminueix fins al 76% (Taula II). De tots els espermatozoides morts observats a l'epidídim, el 13% es troben a la regió cefàlica, el 32% es troben a la regió corporal i fins a un 55% a la regió caudal (Gràfic II) (Làmina I: Fig. 3).

La vitalitat espermàtica disminueix progressivament al llarg del recorregut de l'esperma per l'epidídim.

2. RESISTÈNCIA OSMÒTICA DELS ACROSOMES.

Les diferències en les freqüències absolutes d'espermatozoides amb acrosomes resistents i d'espermatozoides amb acrosomes no resistents entre l'esperma epididimària dels tres mascles, sotmesa a un medi isotònic, no són significatives ($p=0,9390$) (Taula i Gràfic III). El mateix passa quan es comparen les freqüències absolutes d'espermatozoides amb acrosomes resistents i d'espermatozoides amb acrosomes no resistents entre l'esperma epididimària dels tres mascles, sotmesa a un medi hipotònic ($p=0,6308$) (Taula i Gràfic V).

Quan l'esperma és sotmesa a un medi isotònic, la resistència osmòtica dels acrosomes, expressada com el percentatge d'espermatozoides amb acrosomes resistents, no varia significativament al llarg de les tres regions de l'epidídim ($p=0,2563$) (Taula IV) (Làmina I: Fig. 1). De tots els espermatozoides amb acrosomes no resistents observats a l'epidídim, el 50% es troben a la regió cefàlica, el 36% a la regió corporal i el 14% a la regió caudal (Gràfic IV).

Quan l'esperma és sotmesa a un medi hipotònic, la resistència osmòtica dels acrosomes augmenta significativament de la regió cefàlica a la regió corporal de l'epidídim ($p=0,0001$) (Taula VI) (Làmina I: Fig. 2). De tots els espermatozoides amb acrosomes no resistent observats a l'epidídim, el 98% es troben a la regió cefàlica i únicament un 1,5% i un 0,5% es troben, respectivament, a les regions corporal i caudal de l'epidídim (Gràfic VI).

La resistència osmòtica dels acrosomes s'assoleix a la regió corporal de l'epidídim i es manté a la regió caudal.

3. ESTABILITAT CEFÀLICA DELS ESPERMATOZOIDES.

El cap de l'espermatozoide sol desprendre's de la cua per fractura, artefactual o no, de la peça de connexió (Làmina V-b: Fig. 8).

Les diferències en les freqüències absolutes d'espermatozoides normals i d'espermatozoides amb el cap isolat entre l'esperma epididimària dels tres mascles no són significatives ($p=0,8879$) (Taula i Gràfic VII).

L'estabilitat cefàlica dels espermatozoides, expressada com el percentatge d'espermatozoides en què el cap no s'ha després de la cua, disminueix significativament de la regió corporal a la regió caudal de l'epidídim ($p=0,0001$) (Taula VIII). De tots els espermatozoides amb el cap isolat observats a l'epidídim, el 23% es troben a la regió cefàlica, el 17% a la regió corporal i el 60% a la regió caudal (Gràfic VIII).

L'estabilitat cefàlica dels espermatozoides es manté en les dues primeres regions de l'epidídim, però disminueix significativament en la regió caudal.

4. MORFOLOGIA ESPERMÀTICA.

Les diferències en les freqüències absolutes d'espermatozoides madurs, d'espermatozoides immadurs amb gota proximal o distal, i d'espermatozoides aberrants entre l'esperma epididimària dels tres mascles no són significatives ($p=0,2433$) (Taula IX i Gràfics IX-a, IX-b, IX-c i IX-d).

La morfologia espermàtica, expressada com els percentatges d'espermatozoides madurs, d'espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal o distal, i d'espermatozoides aberrants, varia significativament al llarg del recorregut de l'esperma

per les tres regions de l'epidídim ($p=0,0001$) (Taula X). La regió cefàlica de l'epidídim es caracteritza per la presència d'espermatozoides madurs (49%) i d'espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal (49%) (Taula X). La regió corporal de l'epidídim es caracteritza per la presència d'espermatozoides madurs (44%) i d'espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal (54%) (Taula X). La regió caudal de l'epidídim es caracteritza per la presència predominant d'espermatozoides madurs (84%) (Taula X). De tots els espermatozoides madurs de l'epidídim, el 27% es troben a la regió cefàlica, el 25% a la regió corporal i el 48% a la regió caudal (Gràfic X-a). De tots els espermatozoides immadurs amb gota proximal observats a l'epidídim, el 99% es troben a la regió cefàlica i només un 1% es localitza a la regió corporal (Gràfic X-b). De tots els espermatozoides immadurs amb gota distal observats a l'epidídim, un 0,5% es troben a la regió cefàlica, un 81% a la regió corporal i un 18% a la regió caudal (Gràfic X-c). Finalment, de tots els espermatozoides aberrants observats a l'epidídim, un 26% es troben a la regió cefàlica, un 26% més a la regió corporal i un 48% a la regió caudal (Gràfic X-d).

A la regió caudal de l'epidídim hi té lloc, majoritàriament, l'emmagatzemament de l'esperma en la seva forma madura. La gota citoplasmàtica, característica dels espermatozoides immadurs, es desplaça des de la posició proximal a la distal al mateix temps que l'esperma passa de la regió cefàlica a la regió corporal de l'epidídim. La gota citoplasmàtica es perd quan l'esperma arriba a la regió caudal de l'epidídim (Làmina VII-c) (Làmina VII-d). El percentatge de malformacions espermàtiques, si bé es manté a les dues regions de l'epidídim, es duplica a la regió caudal. Entre les cèl.lules espermàtiques procedents de la regió caudal de l'epidídim, hom pot observar cèl.lules somàtiques lliures o adherides als espermatozoides (Làmina II-b: Figs. 26 i 27), nombrosos grànuls de secreció (Làmina IX: Fig. 5), i algunes espermàtides (Làmina V-c: Fig. 14).

Una de les característiques diferencials dels espermatozoides procedents de la regió cefàlica de l'epidídim és el gran desenvolupament de la protuberància acrosòmica apical. En els espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal, la protuberància acrosòmica és més voluminosa i s'estén al llarg de tota la regió acrosòmica a ambdós costats (Làmina V-a: Figs. 1 a 3) (Làmina VIII-a: Fig. 1). En la regió caudal de l'epidídim, els espermatozoides solen presentar un desenvolupament menor de la protuberància acrosòmica (Làmina VII-a: Fig. 1), que es limita a la zona cefàlica més apical (Làmina VII-b: Figs. 4 a 7) (Làmina IX: Fig. 1). A més, el contingut de la vesícula acrosòmica mostra major electrodensitat en els espermatozoides procedents de la regió caudal de l'epidídim (Làmina VIII-a: Fig. 1) (Làmina IX: Fig. 1).

Una altra característica diferencial dels espermatozoides procedents de la regió cefàlica de l'epidídim és la manifestació externa de la disposició helicoidal de les mitocondries al llarg de la peça intermèdia. El relleu que imprimeixen les mitocondries a la peça intermèdia és més intens en els espermatozoides de la regió cefàlica que en els de la regió caudal de l'epidídim (Làmina V-c: Figs. 11 i 13) (Làmina VII-a: Fig. 2). Les mitocondries de la peça intermèdia solen presentar una mida més reduïda i una matriu més electrodensa en els espermatozoides procedents de la regió caudal de l'epidídim (Làmina VIII-b: Fig. 3) (Làmina IX: Fig. 3). Els espermatozoides immadurs solen destacar per l'aspecte de la beina mitocondrial, tant si procedeixen de la regió cefàlica com si procedeixen de la regió caudal de l'epidídim, i independentment que la gota citoplasmàtica es presenti en posició proximal o en posició distal. Les mitocondries, de mida irregular, es disposen al llarg de la zona ocupada per la gota citoplasmàtica de forma desordenada (Làmina VIII-b: Figs. 3, 4 i 5) (Làmina IX: Fig. 3).

Una característica diferencial més dels espermatozoides procedents de la regió cefàlica de l'epidídim és l'elevada flexibilitat de la cua per la peça intermèdia (Làmina VIII-b: Fig. 6), que pot arribar a provocar la formació d'espermatozoides amb la cua doblegada per la peça intermèdia (Làmina VIII-b: Fig. 7) o d'espermatozoides amb la peça intermèdia ondulada (Làmina IV-a: Figs. 24 i 25). Aquest doblegament de la cua sol cimentar-se amb la gota citoplasmàtica (Làmina VIII-c: Figs. 8 i 9). La peça principal dels espermatozoides procedents de la regió cefàlica de l'epidídim no presenta característiques morfològiques diferencials respecte de la dels espermatozoides procedents de la regió caudal de l'epidídim (Làmina VIII-c: Fig. 10).

5. MALFORMACIONS ESPERMÀTIQUES.

Les malformacions espermàtiques, estudiades a partir del recompte de 30000 espermatozoides epididimaris, són les següents: (a) cua doblegada per la peça de connexió, (b) cua doblegada per la peça intermèdia, (c) cua doblegada per l'anell de Jensen, (d) cua doblegada per la peça principal, (e) cua enrotllada, (f) dues cues fusionades i (g) cap gegant (macrocefàlia) i cap petit (microcefàlia). Els percentatges d'aquestes malformacions en el total d'esperma epididimària són:

- a) espermatozoides amb la cua doblegada per la peça de connexió: 1,04% (Taula XI);
- b) espermatozoides amb la cua doblegada per la peça intermèdia: 0,47% (Taula XII);
- c) espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen: 0,17% (Taula XIII);

- d) espermatozoides amb la cua doblegada per la peça principal: 0,18% (Taula XIV);
- e) espermatozoides amb la cua enrotllada: 0,11% (Taula XV);
- f) espermatozoides amb les cues fusionades: 0,19% (Taula XVI);
- g) espermatozoides macrocefàlics: 0,06% (Taula XVII) i espermatozoides microcefàlics: 0,02% (Taula XVIII).

5.1. Espermatozoides amb la cua doblegada per la peça de connexió.

Els espermatozoides amb la cua doblegada per la peça de connexió procedents de la regió cefàlica de l'epidídim solen presentar gota citoplasmàtica proximal (Làmina II-b: Figs. 18 a 20). En els espermatozoides de les regions corporal i caudal de l'epidídim, el doblegament de la cua sol ser més intens i afecta majoritàriament els espermatozoides madurs (Làmina III: Fig. 15) (Làmina IV-b: Figs. 35 i 36) (Làmina VI-a: Fig. 3) (Làmina VII-e: Fig. 15). En la regió caudal de l'epidídim es poden apreciar espermatozoides amb implantació lateral o abaxial de la cua, fet que pot induir al seu doblegament (Làmina VII-f: Figs. 18 i 19).

No s'aprecien diferències significatives entre les freqüències absolutes d'espermatozoides amb la cua doblegada per la peça de connexió a les tres regions epididimàries ($p=0,0378$). A la vista dels resultats obtinguts (Taula i Gràfic XI), hom pot suggerir que la regió corporal de l'epidídim és on els espermatozoides presenten major facilitat de doblegar la cua per la peça de connexió (la diferència entre els percentatges observats a les dues primeres regions té un nivell de significació del 0,0157).

La malformació "cua doblegada per la peça de connexió" no s'origina a l'epidídim.

5.2. Espermatozoides amb la cua doblegada per la peça intermèdia.

Els espermatozoides amb la cua doblegada per la peça intermèdia, més freqüents a la regió cefàlica de l'epidídim que a la regió caudal, poden presentar diverses intensitats de doblegament (Làmina II-b: Figs. 21 a 24) (Làmina IV-b: Fig. 37). El doblegament de la cua sol cimentar-se amb restes citoplasmàtiques procedents de la gota citoplasmàtica (Làmina V-b: Fig. 7) (Làmina VIII-b: Fig. 7) (Làmina VIII-c: Figs. 8 i 9).

El percentatge d'espermatozoides amb la cua doblegada per la peça intermèdia disminueix significativament al llarg del recorregut de l'esperma per les tres regions de l'epidídim ($p=0,002$) (Taula XII). Si bé les freqüències absolutes d'aquesta malformació varien

significativament entre les regions cefàlica i caudal de l'epidídim ($p=0,0009$), no s'observen diferències significatives en comparar les freqüències observades entre les regions cefàlica i corporal ($p=0,0202$), o entre les regions corporal i caudal ($p=0,2978$). De tots els espermatozoides amb cua doblegada per la peça intermèdia observats a l'epidídim, el 47% es troben a la regió cefàlica, el 30% a la regió corporal i el 23% a la regió caudal (Gràfic XII).

Els espermatozoides perden capacitat de doblegar la cua per la peça intermèdia a mesura que avancen pel conducte epididimari.

5.3. Espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen.

Els espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen, si bé són presents a les tres regions de l'epidídim, on presenten la freqüència més elevada és a la regió caudal (Làmina II-b: Fig. 25) (Làmina III: Figs. 16 a 20) (Làmina IV-b: Figs. 39 a 42). El doblegament de la cua sol cimentar-se amb la gota citoplasmàtica (Làmina V-b: Fig. 8) (Làmina IX: Fig. 4). La cua inicia el doblegament per l'anell de Jensen en els espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal (Làmina VI-a: Fig. 4). En la Làmina VI-b (Figs. 5 a 8) es mostren quatre estadis del desenvolupament de la malformació "cua doblegada per l'anell de Jensen" a partir d'espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal. En l'estadi final del doblegament, la cua acaba per replegar-se i fusionar-se amb el cap; aquest darrer estadi és típic a la regió caudal de l'epidídim (Làmina VII-f: Fig. 21).

El percentatge d'espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen augmenta significativament a la regió caudal de l'epidídim ($p=0,0001$) (Taula XIII). Si bé les freqüències absolutes d'aquesta malformació no varien significativament entre les regions cefàlica i corporal de l'epidídim ($p=0,7054$), si es comparen les freqüències observades a les regions corporal i caudal de l'epidídim s'observa que les diferències són significatives ($p=0,0001$). De tots els espermatozoides amb cua doblegada per l'anell de Jensen observats a l'epidídim, el 8% es troben a la regió cefàlica, el 6% a la regió corporal i el 86% a la regió caudal (Gràfic XIII).

La malformació "cua doblegada per l'anell de Jensen" té origen epididimari i es desenvolupa a la regió caudal de l'epidídim.

5.4. Espermatozoides amb la cua doblegada per la peça principal.

Els espermatozoides amb la cua doblegada per la peça principal (Làmina III: Fig. 21) són presents al llarg del conducte epididimari sense diferències importants en les freqüències observades a les tres regions.

Les freqüències absolutes d'espermatozoides amb la cua doblegada per la peça principal a les tres regions epididimàries no difereixen significativament ($p=0,9813$) (Taula XIV). De tots els espermatozoides amb la cua doblegada per la peça principal observats a l'epidídim, el 32% es troben a la regió cefàlica, el 34% a la regió corporal i el 34% a la regió caudal (Gràfic XIV).

La malformació "cua doblegada per la peça principal" no es desenvolupa al llarg del recorregut de l'esperma per l'epidídim.

5.5. Espermatozoides amb la cua enrotllada.

Els espermatozoides amb la cua enrotllada són presents a les tres regions de l'epidídim, si bé les freqüències més elevades es troben a les regions corporal i caudal de l'epidídim (Làmina VII-e: Figs. 16 i 17). L'enrotllament de la cua s'inicia a la regió cefàlica de l'epidídim (Làmina II-b: Fig. 17) i sol completar-se a la regió corporal (Làmina III: Figs. 12 a 14) (Làmina IV-b: Figs. 26 a 34) (Làmina VI-c: Fig. 10).

L'enrotllament de la cua pot iniciar-se a qualsevol de les tres peces de la cua de l'espermatozoide, la terminal (Làmina II-b: Fig. 17) (Làmina IV-b: Figs. 28 a 30) (Làmina V-a: Fig. 4) (Làmina V-b: Fig. 8), la principal (Làmina IV-b: Figs. 26 i 27) (Làmina V-c: Fig. 12) i la intermèdia (Làmina III: figs. 12 a 14), o bé a dues peces a la vegada (Làmina V-b: Figs. 9 i 10) (Làmina V-c: Fig. 11).

El percentatge d'espermatozoides amb la cua enrotllada augmenta significativament a la regió corporal de l'epidídim i tendeix a mantenir-se constant a la regió caudal ($p=0,0022$) (Taula XV). Si bé les freqüències absolutes d'aquesta malformació varien significativament entre les regions cefàlica i corporal de l'epidídim ($p=0,0075$), les freqüències absolutes observades a les regions corporal i caudal no difereixen significativament ($p=0,2730$). De tots els espermatozoides amb la cua enrotllada observats a l'epidídim, el 6% es troben a la regió cefàlica, el 38% a la regió corporal i el 56% a la regió caudal (Gràfic XV).

La malformació "cua enrotllada" té origen epididimari i es desenvolupa a la regió corporal de l'epidídim.

5.6. Espermatozoides amb les cues fusionades.

Els espermatozoides amb un cap i dues cues poden presentar-se al llarg de l'epidídim en tres formes: (a) amb les cues fusionades, (b) amb les cues parcialment fusionades i (c) amb les cues no fusionades (Làmina II-a: Figs. 12 a 16) (Làmina III: Fig. 10) (Làmina IV-a: Figs. 13 a 20). La fusió de les cues sol iniciar-se per la peça intermèdia i es va estenent al llarg de les altres peces. Hom pot distingir dos tipus d'espermatozoides amb un cap i dues cues fusionades, els que presenten un cap de mida normal (Làmina VII-g: Fig. 22) i els macrocefàlics (Làmina VII-g: Figs. 23 i 24). La fusió de les cues, en ambdós tipus d'espermatozoides, es produeix descrivint una hèlice (Làmina VII-g: Fig. 24). Els espermatozoides amb dos caps i dues cues es troben també a les tres regions epididimàries, si bé a la regió caudal és on presenten la freqüència més elevada (Làmina II-a: Fig. 8) (Làmina III: Fig. 12) (Làmina IV-a: Fig. 23). Aquests espermatozoides s'originen per aglutinació dels caps o de les cues de dos espermatozoides. L'aglutinació sol iniciar-se a la regió cefàlica de l'epidídim a partir d'un primer contacte entre els caps o entre dues peces de les cues, i es va estenent al llarg d'ambdues cèl.lules a mesura que aquestes van avançant pel conducte epididimari (Làmina II-a: Figs. 7 a 11) (Làmina III: Figs. 7 a 9) (Làmina IV-a: Figs. 21 a 23). En l'estadi més avançat de la fusió de les dues cues es pot observar la seva trajectòria helicoïdal (Làmina VI-b: Fig. 9). La disposició helicoïdal de les cues s'inicia entre les peces principals i s'estén fins a les peces intermèdies i terminals (Làmina VI-c: Fig. 11).

El percentatge d'espermatozoides amb les cues fusionades augmenta significativament a la regió corporal de l'epidídim i tendeix a mantenir-se constant a la regió caudal ($p=0,0001$) (Taula XVI). Dins d'aquesta malformació hom pot distingir dues tipologies, els espermatozoides amb un cap i dues cues fusionades (Taula XVIa), i els espermatozoides amb dos caps i dues cues fusionades (Taula XVIb). Els espermatozoides amb un cap i dues cues mantenen bàsicament les cues no fusionades a la regió cefàlica de l'epidídim i les fusionen al nivell de la regió corporal de l'epidídim (Taula XVIa). El percentatge d'espermatozoides amb dos caps i dues cues augmenta en les tres regions epididimàries, fet que indica que la fusió de les cues es produeix al llarg de tot el conducte epididimari (Taula XVIb).

Les freqüències absolutes d'aquesta malformació a les regions cefàlica i corporal de l'epidídim varien significativament ($p=0,0001$). Les freqüències absolutes observades a les regions corporal i caudal no difereixen significativament ($p=0,2243$). De tots els espermatozoides amb les cues fusionades observats a l'epidídim, el 5% es troben a la regió cefàlica, el 40% a la regió corporal i el 55% a la regió caudal (Gràfic XVI).

La fusió de les cues dels espermatozoides amb dues cues es produeix al llarg del conducte epididimari.

5.7. Espermatozoides macrocefàlics i espermatozoides microcefàlics.

Les modificacions de la mida o de la forma del cap de l'espermatozoide són molt diverses. Els diversos tipus d'espermatozoides amb malformacions cefàliques (macrocefàlics, microcefàlics, o amb el cap arrodonit, piriforme o doblegat per un pla longitudinal) són presents a les tres regions epididimàries, la cefàlica (Làmina II-a: Figs. 1 a 5) (Làmina V-a: Figs. 5 i 6), la corporal (Làmina III: Figs. 3 a 6), i la caudal (Làmina IV-a: Figs. 3 a 12) (Làmina VII-e: Figs. 13 i 14). Les modificacions de la forma del cap solen afectar la disposició de la vesícula acrosòmica i del material perinuclear (Làmina VIII-a: Fig. 2) (Làmina IX: Fig. 2). Una de les característiques dels espermatozoides procedents de les dues primeres regions epididimàries és la flexibilitat cefàlica; el cap es doblega fàcilment per un pla transversal (Làmina VI-a: Figs. 1 i 2).

Les freqüències absolutes d'espermatozoides macrocefàlics a les tres regions epididimàries no difereixen significativament ($p=0,6917$) (Taula XVII). De tots els espermatozoides macrocefàlics observats a l'epidídim el 26% es troben a la regió cefàlica, el 32% es troben a la regió corporal i el 42% a la regió caudal (Gràfic XVII).

La malformació "cap gegant o espermatozoide macrocefàlic" no es desenvolupa a l'epidídim.

Les freqüències absolutes d'espermatozoides microcefàlics a les tres regions epididimàries tampoc difereixen significativament ($p=0,8187$) (Taula XVIII). De tots els espermatozoides microcefàlics observats a l'epidídim, el 20% es troben a la regió cefàlica, el 40% a la regió corporal i l'altre 40% a la regió caudal (Gràfic XVIII).

La malformació "cap petit o espermatozoide microcefàlic" no es desenvolupa a l'epidídim.

6. AGLUTINACIÓ ESPERMÀTICA.

Les diferències en les freqüències absolutes d'espermatozoides no aglutinats i d'espermatozoides aglutinats entre l'esperma epididimària dels tres mascles no són significatives ($p=0,2858$) (Taula i Gràfic XIX). Així mateix, les freqüències absolutes dels



diversos tipus d'aglutinació entre l'esperma epididimària dels tres mascles tampoc no difereixen significativament ($p=0,3675$) (Taula i Gràfics XX, XX-a, XX-b i XX-c).

L'aglutinació espermàtica, expressada com el percentatge total d'espermatozoides aglutinats cap-cap, cua-cua i cap-cua, augmenta significativament a la regió corporal de l'epidídim i tendeix a mantenir-se o a augmentar lleugerament a la regió caudal ($p=0,0001$) (Taula XXI). Les freqüències absolutes d'espermatozoides aglutinats a les regions cefàlica i corporal de l'epidídim difereixen significativament ($p=0,0090$), mentre que les freqüències observades a les regions corporal i caudal no presenten diferències significatives ($p=0,0441$). De tots els espermatozoides aglutinats observats a l'esperma epididimària, el 25% es troben a la regió cefàlica, el 34% a la regió corporal i el 41% a la regió caudal (Gràfic XXI). L'aglutinació espermàtica tendeix a augmentar progressivament al llarg del recorregut de l'esperma per l'epidídim. Les diferències entre les freqüències absolutes de les regions cefàlica i caudal són molt significatives ($p=0,0001$) (Taula XXI).

Al llarg del conducte epididimari, els tipus d'aglutinació espermàtica, expressats com els percentatges parcials d'espermatozoides aglutinats cap-cap, cua-cua i cap-cua, no varia significativament ($p=0,0278$) (Taula XXII). Malgrat que s'observen diferències significatives entre les freqüències observades a les dues primeres regions de l'epidídim ($p=0,0045$), si es comparen les freqüències absolutes de la regió cefàlica amb les de la regió caudal s'observa que les diferències no són significatives ($p=0,2110$) (Taula XXII i Gràfics XXII-a, XXII-b i XXII-c).

En definitiva, si bé el percentatge total d'espermatozoides aglutinats augmenta al llarg del conducte epididimari, el tipus d'aglutinació no es modifica significativament.

LÀMINA I

Figures: 1, 2, i 3.

LÀMINA I.

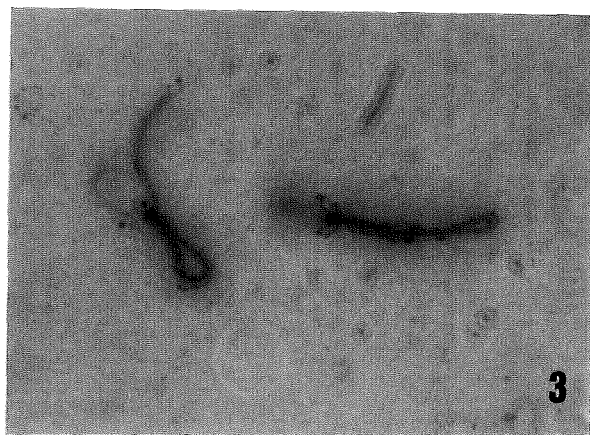
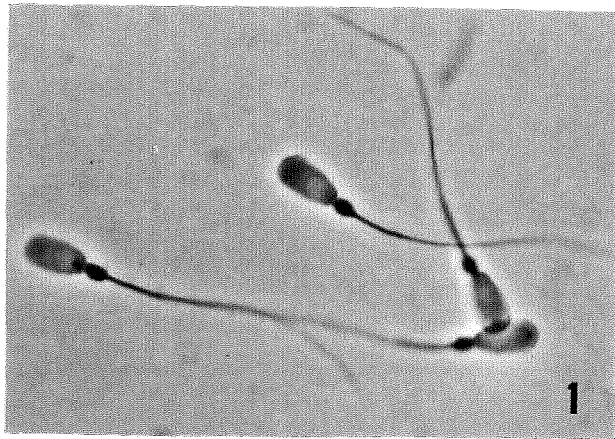
Resistència osmòtica dels acrosomes dels espermatozoides epididimaris. Microscòpia òptica de contrast de fases. 1150 X.

Fig. 1. Espermatozoides procedents del cap epididimari després de ser sotmesos a l'acció d'una solució isotònica (300 mOsm) de citrat sòdic. Observeu l'acrosoma normal d'aquests espermatozoides i la presència de la gota citoplasmàtica en posició proximal.

Fig. 2. Espermatozoides procedents del cap epididimari després de ser sotmesos a l'acció d'una solució hipotònica (150 mOsm) de citrat sòdic. Observeu l'acrosoma danyat d'aquests espermatozoides i la cua doblegada i inflada.

Vitalitat dels espermatozoides epididimaris. Microscòpia òptica de camp clar. *Mètode Eosina-Nigrosina*. 1150 X.

Fig. 3. Espermatozoides procedents de la cua epididimària. L'espermatozoide de l'esquerra de la microfotografia és viu (cap sense tenyir), mentre que el de la dreta és mort (cap tenyit de rosa).



LÀMINA II-a

Figures: 1 a 16.

LÀMINA II-a.

Espermatozoides procedents del cap epididimari. Aspecte dels espermatozoides madurs, dels immadurs i d'algunes malformacions espermàtiques que afecten la mida o la forma del cap i de la cua. Microscòpia òptica de camp clar. *Mètode Panòptic Ràpid de QCA* ① i *Mètode de Papanicolaou* ②. 1000 X.

Fig. 1. Espermatozoide amb el cap petit. ①.

Fig. 2. Espermatozoide amb el cap petit i arrodonit. ②.

Fig. 3. Espermatozoide macrocefàlic immadur amb gota citoplasmàtica proximal. ②.

Figs. 4 i 5. Espermatozoides macrocefàlics immadurs amb gota citoplasmàtica proximal. ①.

Fig. 6. Espermatozoide madur amb una petita protuberància a la regió apical del cap. ①.

Fig. 7. Espermatozoide amb dues cues iniciant el procés de fusió o d'enrotllament per l'extrem de les cues. ①.

Fig. 8. Espermatozoide amb dos caps i dues cues fusionades. Observeu també en aquesta microfotografia un espermatozoide amb la cua doblegada per la peça de connexió. ①.

Fig. 9. Dos espermatozoides madurs iniciant el procés de fusió per les cues. ②.

Fig. 10. Dos espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal aglutinats pels caps i començant a fusionar les cues per les peces intermèdies. ②.

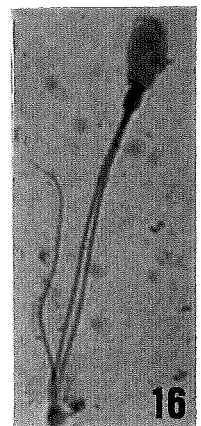
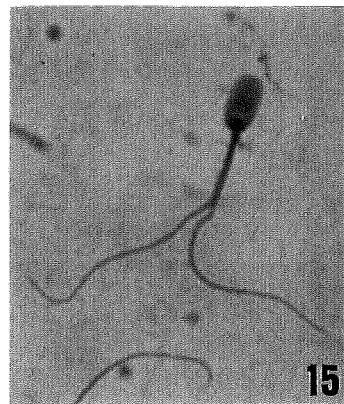
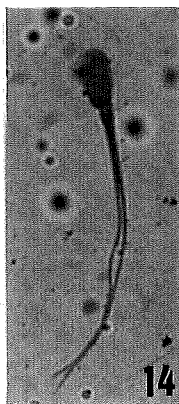
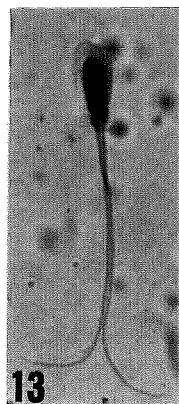
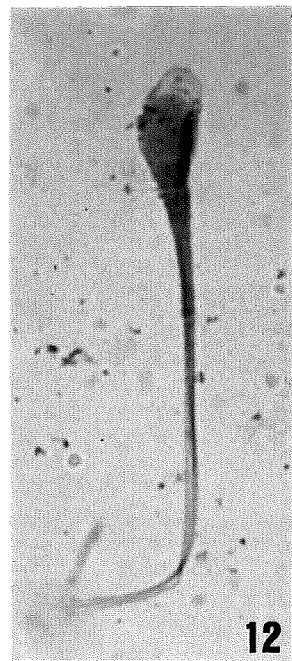
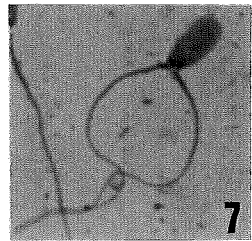
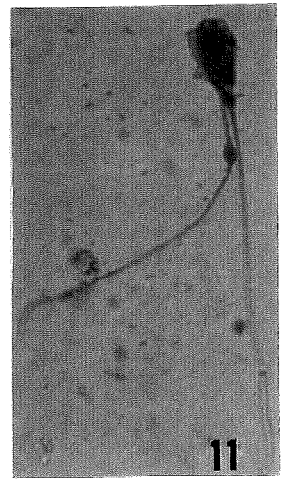
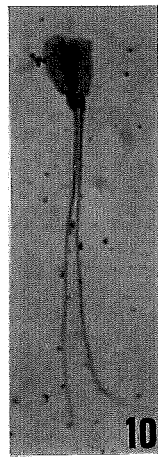
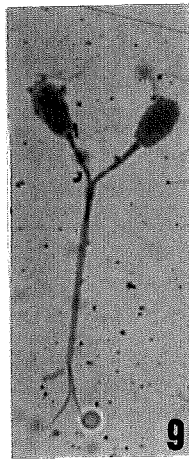
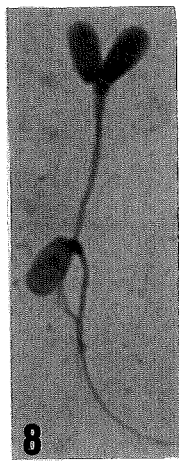
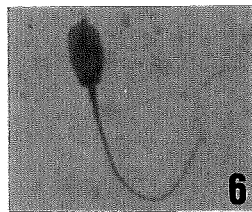
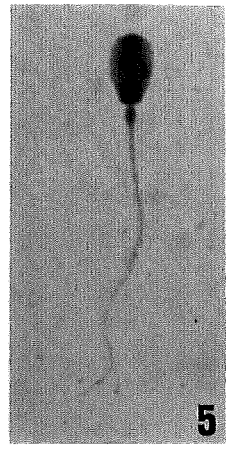
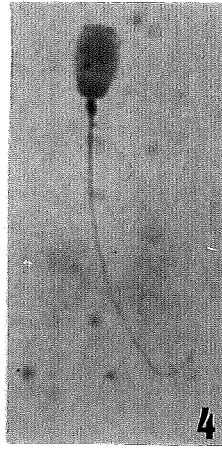
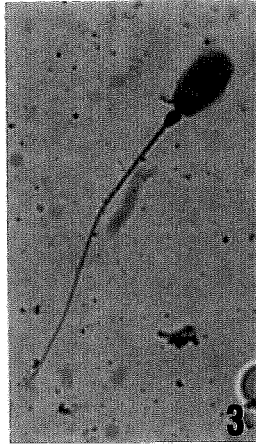
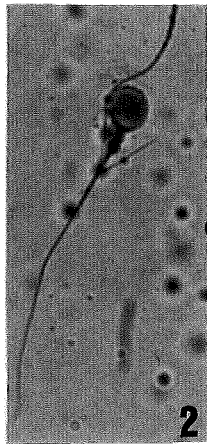
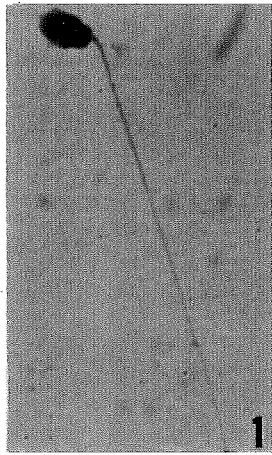
Fig. 11. Espermatozoide amb dues cues no fusionades. Una de les cues presenta la gota citoplasmàtica en posició proximal i l'altra cua presenta la gota citoplasmàtica en posició medio-distal. ②.

Fig. 12. Espermatozoide amb dues cues fusionades i cap amb l'acrocoma reaccionat. ①. 1600 X.

Fig. 13. Espermatozoide amb dues cues parcialment fusionades. Les parts finals de les cues encara resten separades. El cap presenta l'acrocoma reaccionat. *Mètode de Feulgen*.

Figs. 14 i 15. Espermatozoides amb dues cues parcialment fusionades. En ambdós casos el procés de fusió de les cues s'inicia per la peça intermèdia. ②; ①.

Fig. 16. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal i amb dues cues parcialment fusionades. La regió fusionada correspon a la part proximal de les peces intermèdies. ②.



LÀMINA II-b

Figures: 17 a 27.

LÀMINA II-b.

Espermatozoides procedents del cap epididimari. Aspecte dels espermatozoides madurs i d'algunes malformacions espermàtiques per enrotllament i doblegament de la cua. Microscòpia òptica de camp clar. *Mètode Panòptic Ràpid de QCA* ① i *Mètode de Papanicolaou* ②. 1000 X.

Fig. 17. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal i amb la regió distal de la cua enrotllada. ①.

Fig. 18. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal i amb la cua doblegada per la peça de connexió. Observeu també un espermatozoide madur. ①.

Figs. 19 i 20. Espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal i amb la cua doblegada per la peça de connexió. ①.

Figs. 21, 22 i 23. Espermatozoides amb la cua doblegada per la peça intermèdia. El doblegament dóna lloc a la formació d'angles de diferents graus en les cues dels espermatozoides.

La figura 21 mostra un espermatozoide amb la cua doglegada formant un angle d'uns 45°. ②.

La figura 22 mostra un espermatozoide amb la cua doglegada formant un angle d'uns 90°. ②.

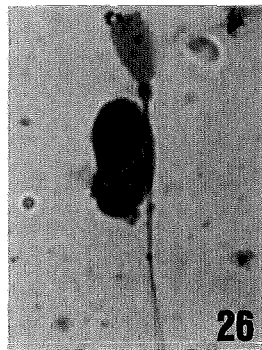
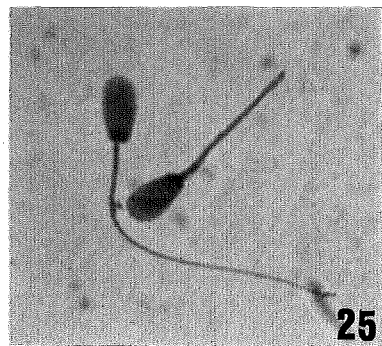
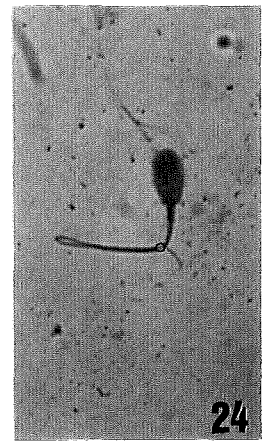
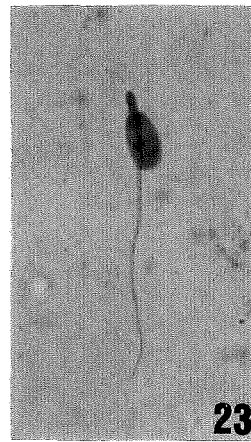
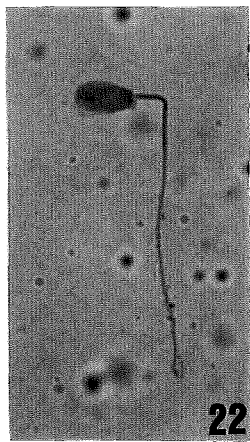
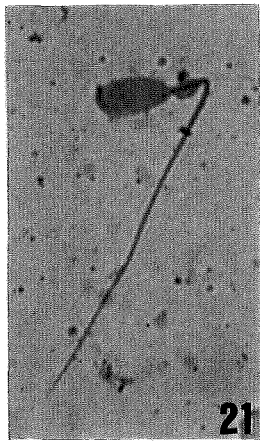
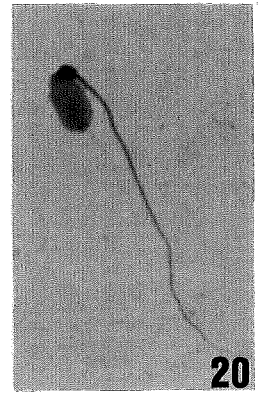
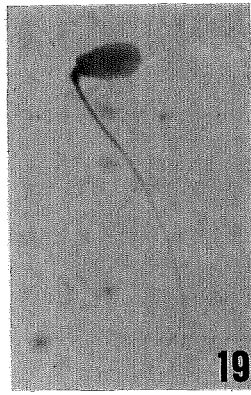
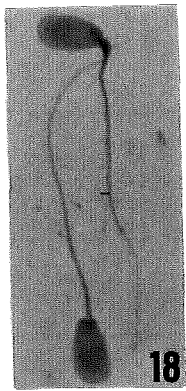
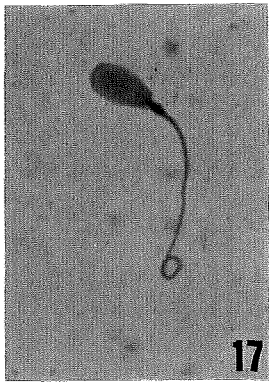
La figura 23 mostra un espermatozoide amb la cua doglegada formant un angle d'uns 0°. ①.

Fig. 24. Espermatozoide amb la cua doblegada per la peça intermèdia i, també, per la peça principal de la cua. ②.

Fig. 25. Espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. Observeu també un espermatozoide madur. ①.

Fig. 26. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal i cèl.lula somàtica. ②.

Fig. 27. Cèl.lula somàtica. ②.



LÀMINA III

Figures: 1 a 21.

LÀMINA III.

Espermatozoides procedents del cos epididimari. Aspecte dels espermatozoides madurs, dels immadurs i d'algunes malformacions espermàtiques. Microscòpia òptica de camp clar. *Mètode Panòptic Ràpid de QCA* ① i *Mètode de Papanicolaou* ②. 1000 X.

Fig. 1. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. ②.

Fig. 2. Espermatozoide madur que acaba de desprendre la gota citoplasmàtica distal. ②.

Fig. 3. Espermatozoide amb el cap lleugerament arrodonit i la cua doblegada per la peça principal. ①.

Fig. 4. Espermatozoide microcefàlic. Compareu amb els dos espermatozoides madurs de morfologia normal que apareixen també en la microfotografia. ①.

Figs. 5 i 6. Espermatozoides macrocefàlics. ①; ②.

Fig. 7. Dos espermatozoides amb les cues aglutinades per les peces intermèdies. ①.

Fig. 8. Dos espermatozoides començant a fusionar-se per les cues. ①.

Fig. 9. Dos espermatozoides aglutinats per les cues. ①.

Fig. 10. Espermatozoide amb dues cues fusionades. ①.

Fig. 11. Espermatozoide amb un únic cap i la cua enrotllada. ①.

Figs. 12 i 13. Espermatozoides amb dos caps i dues cues fusionades iniciant el procés d'enrotllament. ①.

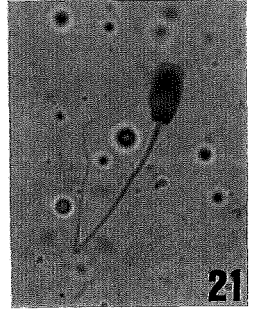
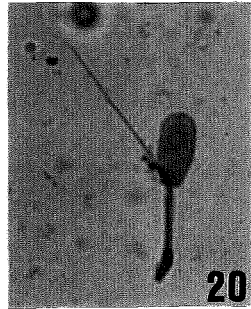
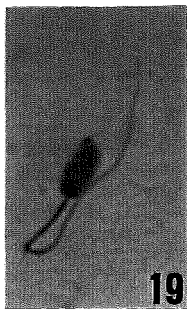
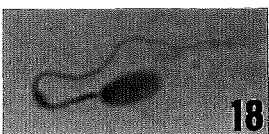
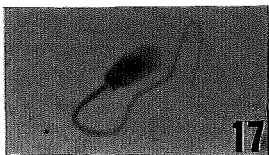
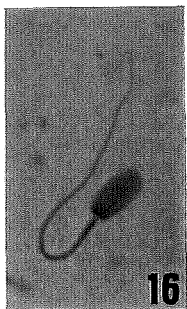
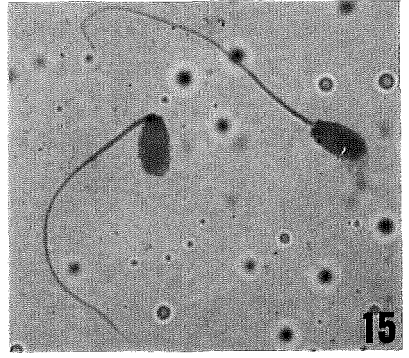
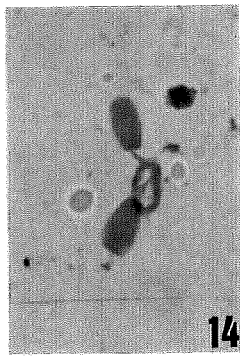
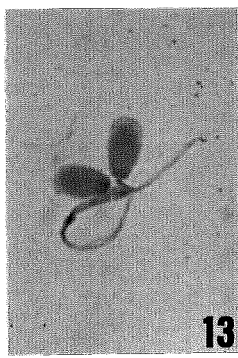
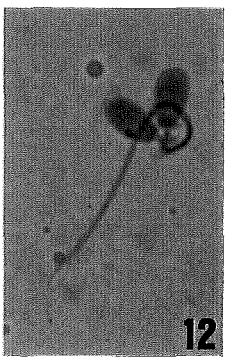
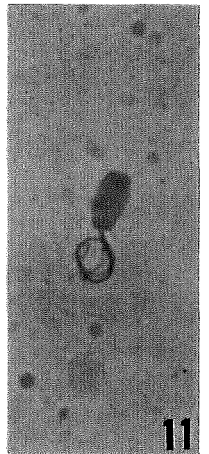
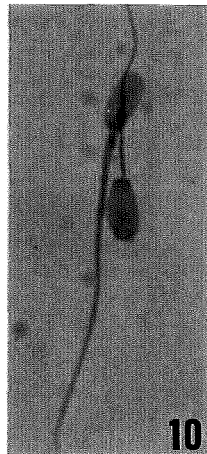
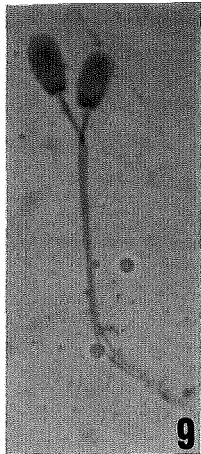
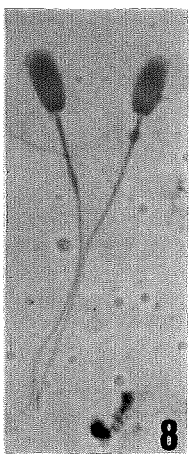
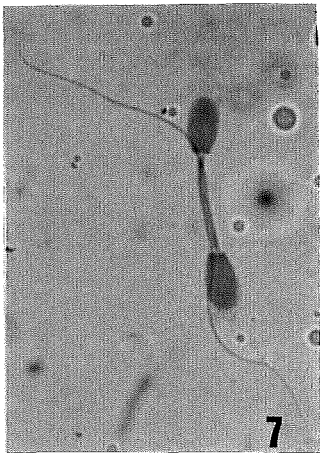
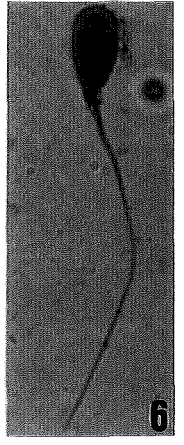
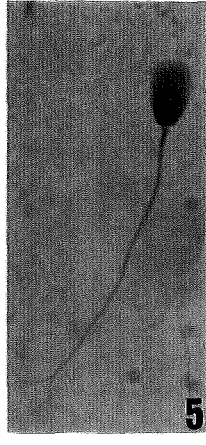
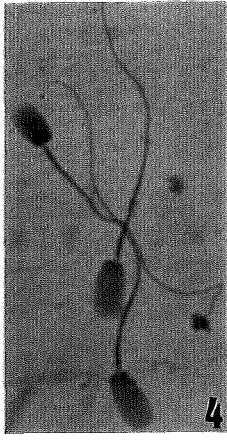
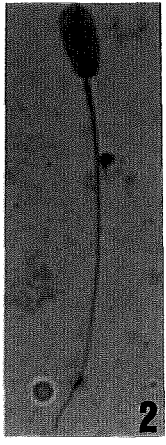
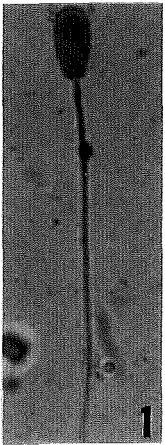
Fig. 14. Espermatozoide amb dos caps i la cua enrotllada. ①.

Fig. 15. Espermatozoide amb la cua doblegada per la peça de connexió i espermatozoide madur morfològicament normal. ②.

Figs. 16 a 19. Espermatozoides iniciant el procés de doblegament de la cua per l'anell de Jensen. ①.

Fig. 20. Espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. La peça principal es fusiona amb la peça intermèdia. ②.

Fig. 21. Espermatozoide amb la cua doblegada per la peça principal. ②.



LÀMINA IV-a

Figures: 1 a 25.

LÀMINA IV-a.

Espermatozoides procedents de la cua epididimària. Aspecte dels espermatozoides madurs, dels immadurs i d'algunes malformacions espermàtiques. Microscòpia òptica de camp clar. *Mètode Panòptic Ràpid de QCA* ① i *Mètode de Papanicolaou* ②. 1000 X.

Fig. 1. Espermatozoides madurs. ①.

Fig. 2. Espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal. ①.

Fig. 3. Espermatozoide macrocefàlic. Compareu amb l'espermatozoide madur morfològicament normal que apareix a la mateixa microfotografia. ①.

Fig. 4. Espermatozoide macrocefàlic. ①.

Fig. 5. Espermatozoide macrocefàlic i amb la cua doblegada per la peça intermèdia. El doblegament de la peça intermèdia queda cimentat per restes de la gota citoplasmàtica. ①.

Fig. 6. Espermatozoide macrocefàlic. Compareu amb l'espermatozoide madur morfològicament normal que apareix a la mateixa microfotografia. ①.

Fig. 7. Espermatozoide microcefàlic superposat a un cap de mida normal. ①.

Fig. 8. Espermatozoide microcefàlic que presenta una condensació cromàtica anormal. ①.

Figs. 9 i 10. Espermatozoides amb el cap petit i arrodonit. Compareu amb els espermatozoides madurs morfològicament normals. ①; ②.

Figs. 11 i 12. Espermatozoides amb el cap lleugerament arrodonit. Compareu amb els espermatozoides madurs morfològicament normals. ①.

Fig. 13. Espermatozoide amb dues cues parcialment fusionades. *M. òptica de contrast de fases*.

Fig. 14. Espermatozoide amb dues cues no fusionades. ②.

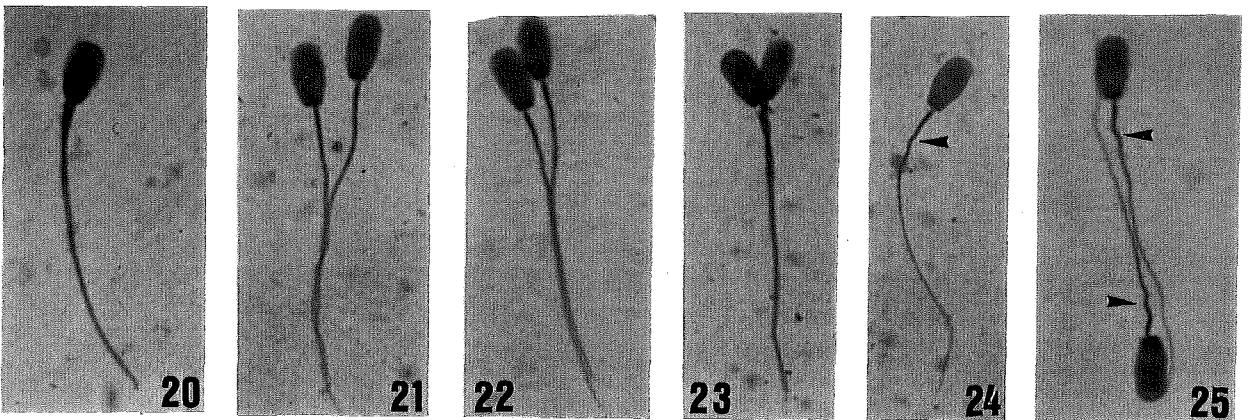
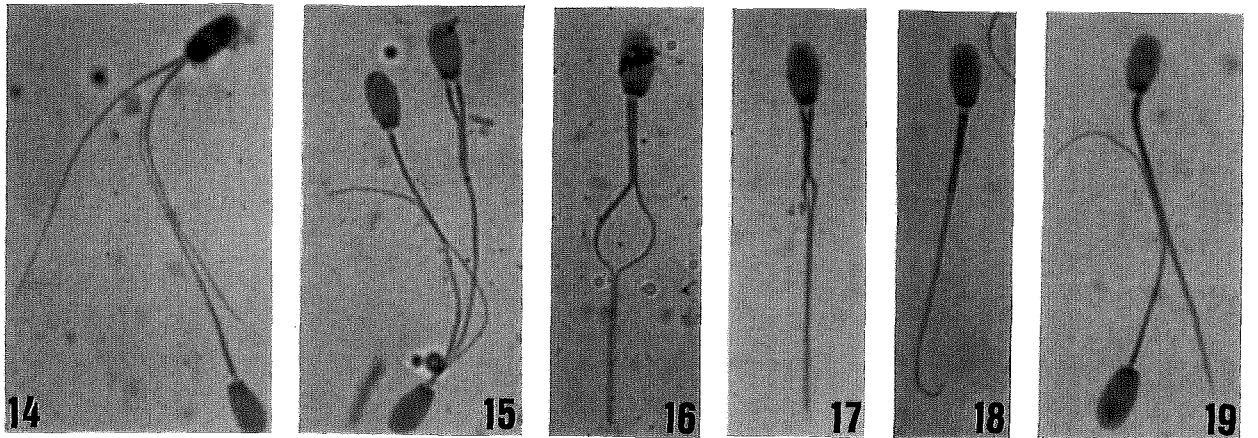
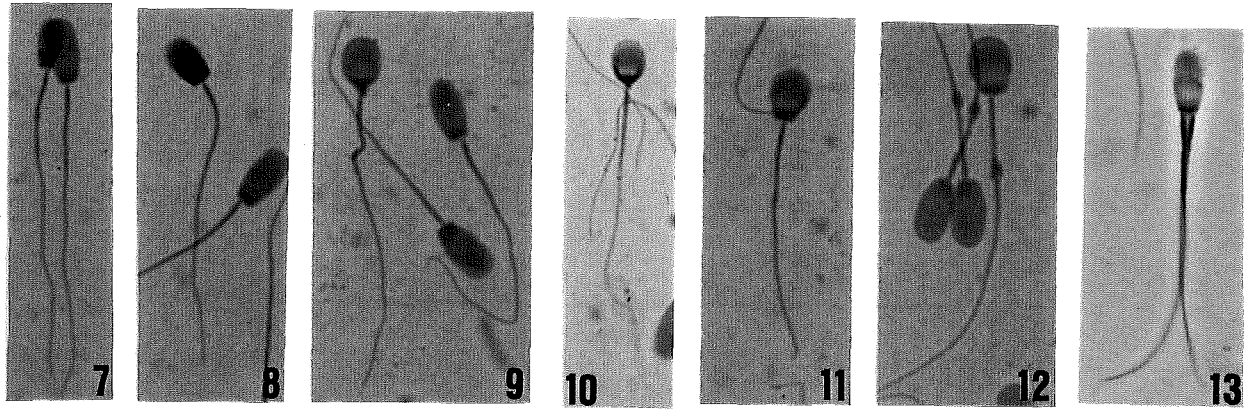
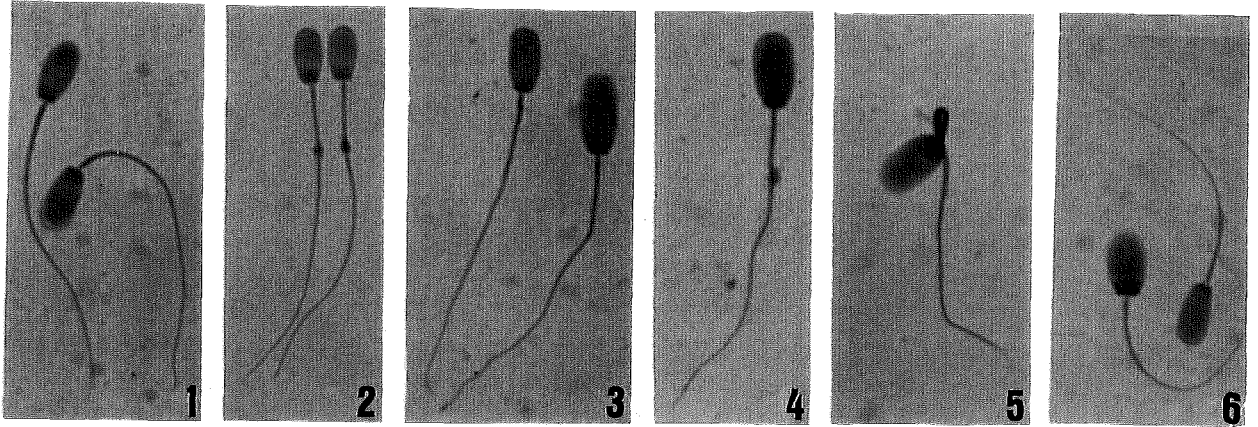
Figs. 15, 16 i 17. Espermatozoides amb dues cues no completament fusionades. ②; ②; ①.

Figs. 18, 19 i 20. Espermatozoides amb dues cues completament fusionades. ①.

Figs. 21 i 22. Dos espermatozoides aglutinats cua a cua (o amb les cues semifusionades). ①.

Fig. 23. Espermatozoide amb dos caps i dues cues fusionades. ①.

Figs. 24 i 25. Espermatozoides que presenten la peça intermèdia amb ondulacions ("corkscrew"). ②; ①.



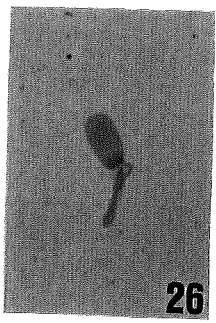
LÀMINA IV-b

Figures: 26 a 43.

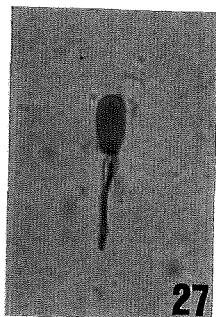
LÀMINA IV-b.

Espermatozoides procedents de la cua epididimària. Aspecte d'algunes malformacions espermàtiques. Microscòpia òptica de camp clar. *Mètode Panòptic Ràpid de QCA* ① i *Mètode de Papanicolaou* ②. 1000 X.

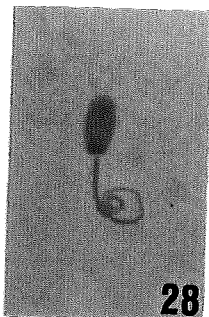
- Figs. 26 i 27.** Espermatozoides amb la cua enrotllada a partir de la peça intermèdia. ②.
- Figs. 28, 29 i 30.** Espermatozoides amb diverses intensitats d'enrotllament de la cua. ①.
- Fig. 31.** Espermatozoide amb la cua curta i enrotllada. ①.
- Fig. 32.** Espermatozoide amb la cua enrotllada i restes de la gota citoplasmàtica cimentant aquest enrotllament. ①.
- Fig. 33.** Espermatozoide amb dos caps i amb les cues en procés de fusió i enrotllament. ②.
- Fig. 34.** Espermatozoide amb dos caps i amb la cua enrotllada. ②.
- Figs. 35 i 36.** Espermatozoides amb la cua doblegada per la peça de connexió. ①.
- Fig. 37.** Espermatozoide amb la cua doblegada per la peça intermèdia. Aquest doblegament està cimentat per restes de la gota citoplasmàtica. ②.
- Fig. 38.** Espermatozoide amb la cua doblegada per la peça intermèdia. El doblegament dona lloc a un angle de 90° en la cua de l'espermatozoide. ①.
- Fig. 39.** Espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. ①.
- Fig. 40.** Espermatozoide amb la cua doblegada i parcialment enrotllada al nivell de l'anell de Jensen. ①.
- Fig. 41.** Espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. ②.
- Fig. 42.** Espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. Aquest doblegament està cimentat per restes de la gota citoplasmàtica, de manera que les peces intermèdia i principal queden semifusionades. ②.
- Fig. 43.** Espermatozoide amb la cua curta. ②.



26



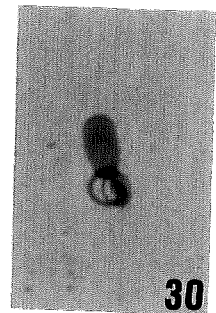
27



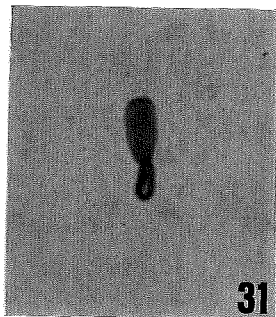
28



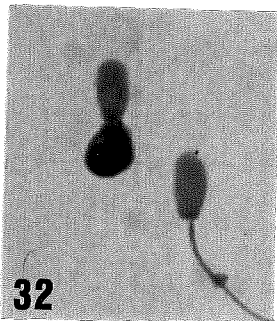
29



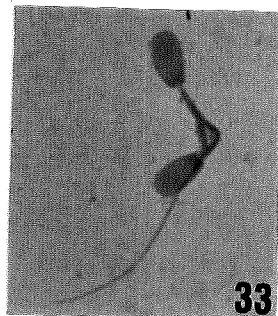
30



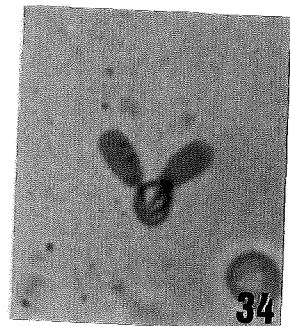
31



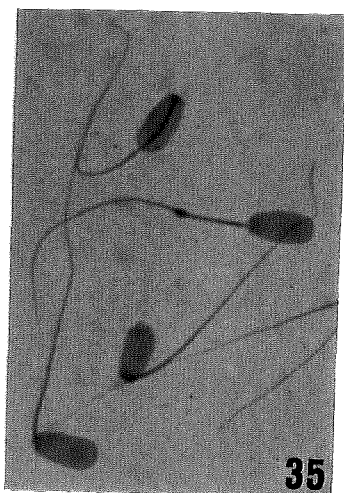
32



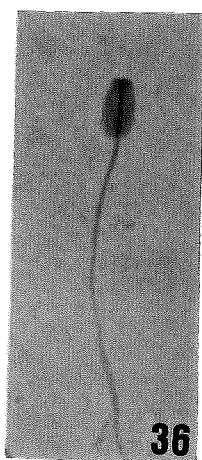
33



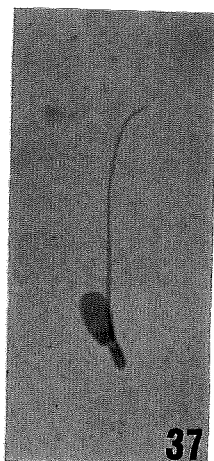
34



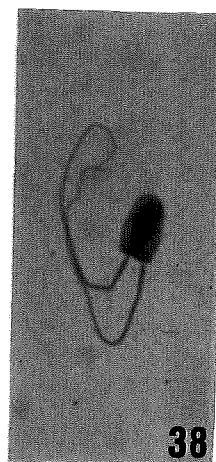
35



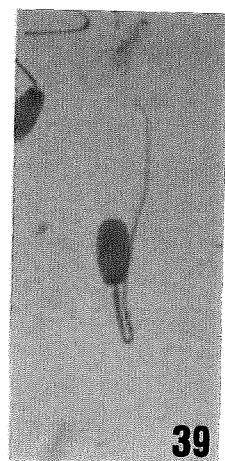
36



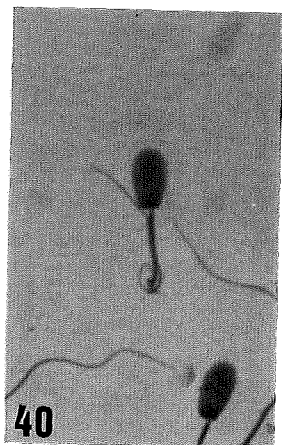
37



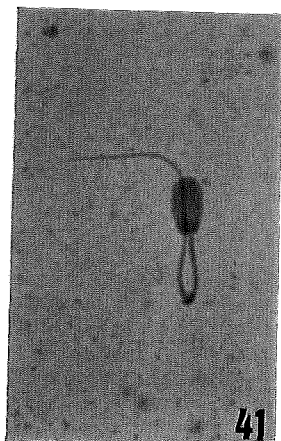
38



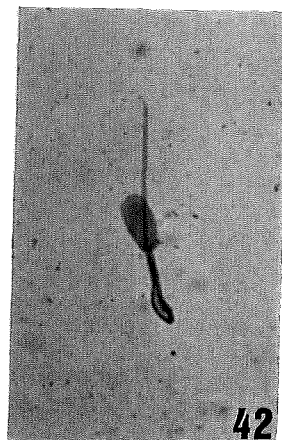
39



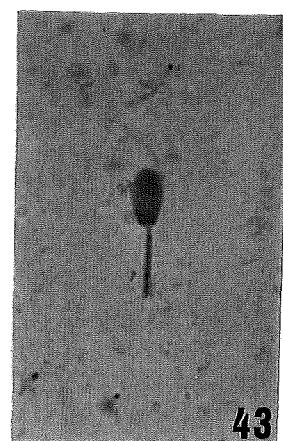
40



41



42



43

LÀMINA V-a

Figures: 1 a 6.

LÀMINA V-a.

Espermatozoides procedents del cap epididimari. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Figs. 1 i 2. Aspecte del cap d'un parell d'espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal (GP) per la cara que presenta la protuberància acrosòmica apical (PA). Les fletxes marquen el límit de les regions acrosòmica (A) i postacrosòmica del cap (P). 5600 X.

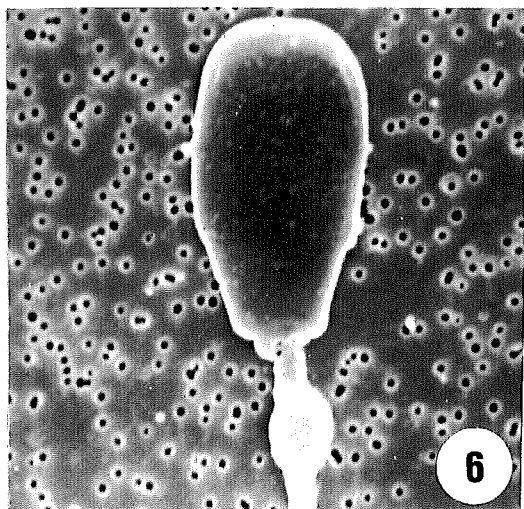
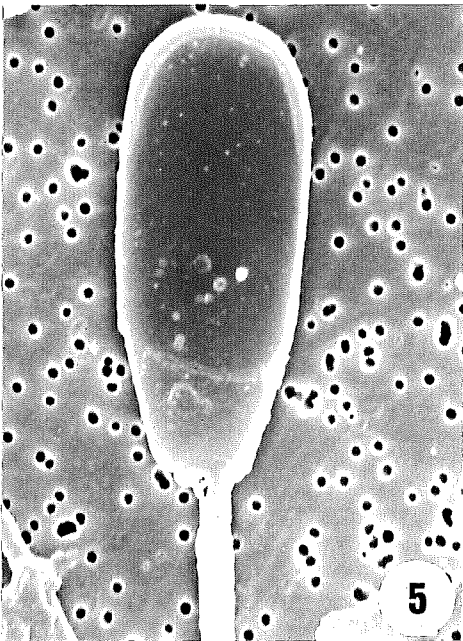
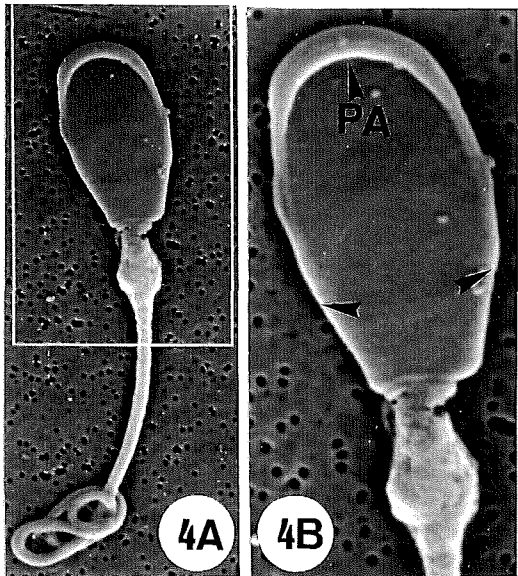
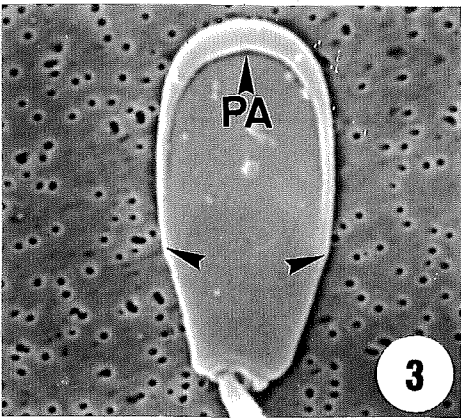
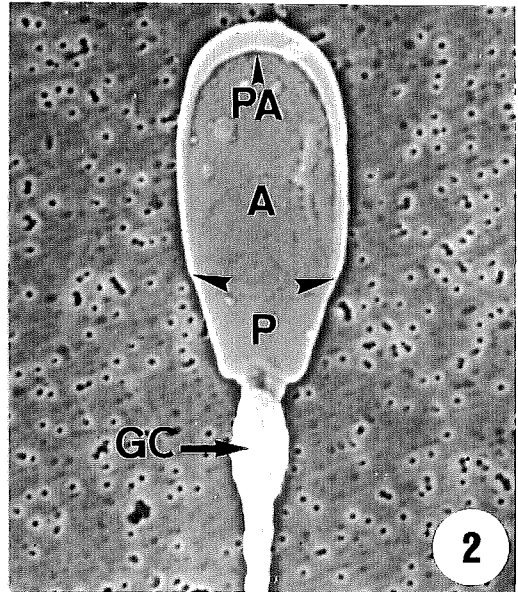
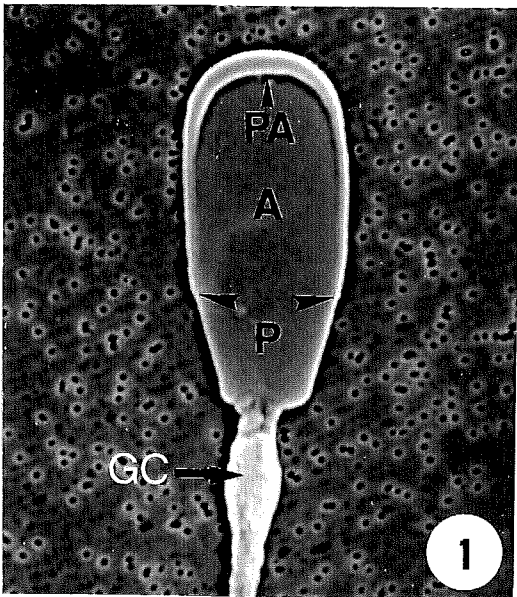
Fig. 3. Aspecte del cap d'un espermatozoide madur per la cara que presenta la protuberància acrosòmica (PA). Les fletxes indiquen el límit de la protuberància acrosòmica. 5800 X.

Fig. 4. A. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal i amb la cua enrotllada formant un nus. Aquest enrotllament evidencia l'elevada flexibilitat de la cua de l'espermatozoide en la regió cefàlica de l'epidídim. La part enquadrada és ampliada a la **figura 4B**. 3300 X.

B. Detall del cap d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal per la cara que presenta la protuberància acrosòmica (PA). Les fletxes indiquen el límit de la protuberància acrosòmica. 7400 X.

Fig. 5. Espermatozoide amb el cap estret i allargat. 7400 X.

Fig. 6. Espermatozoide microcefàlic i immadur amb gota citoplasmàtica proximal. 5600 X.



LÀMINA V-b

Figures: 7 a 10.

LÀMINA V-b.

Espermatozoides procedents del cap epididimari. Microscòpia electrònica d'escànnning.

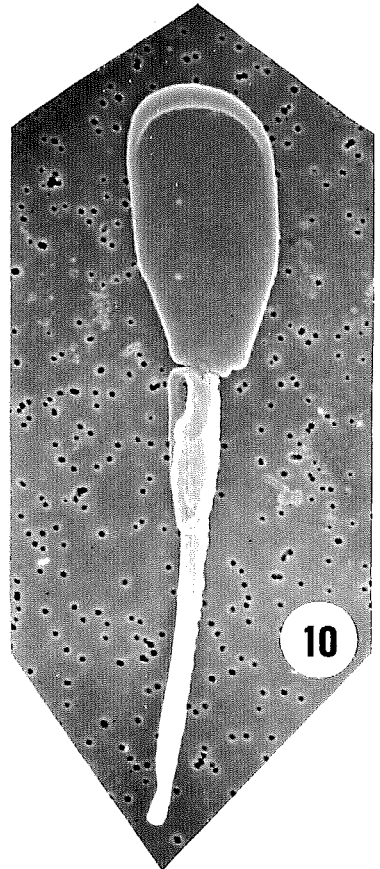
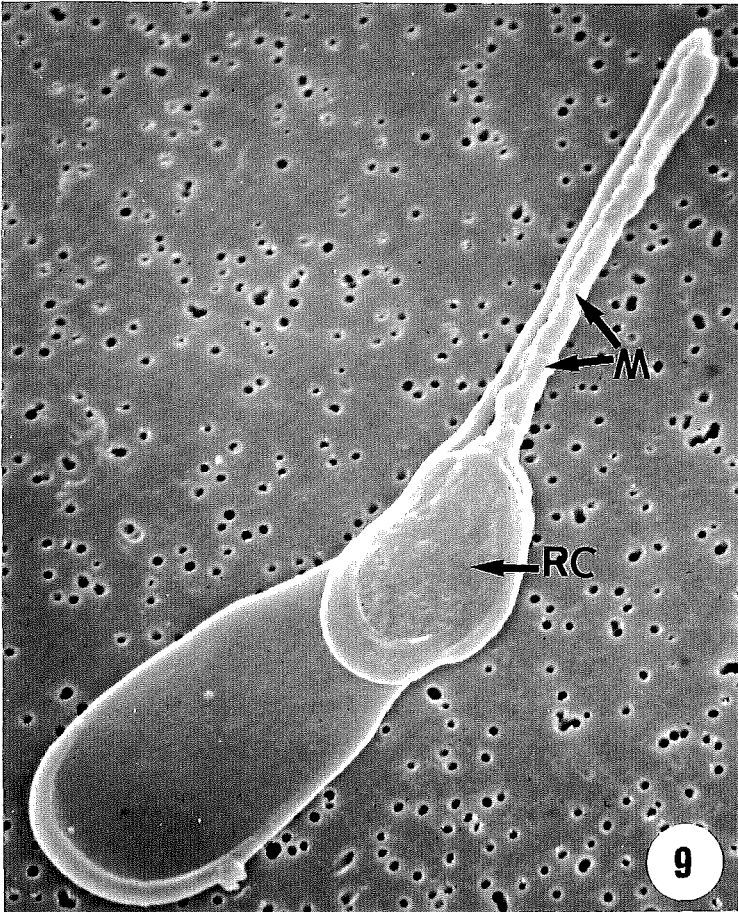
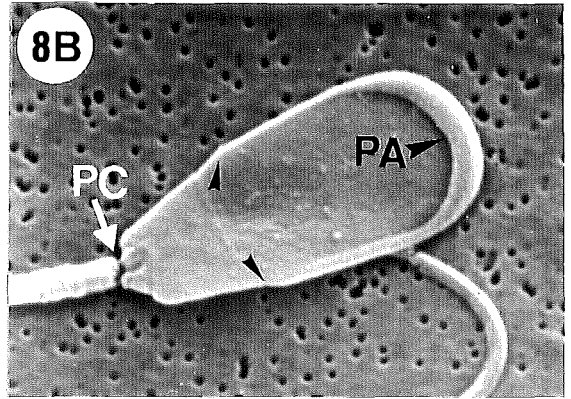
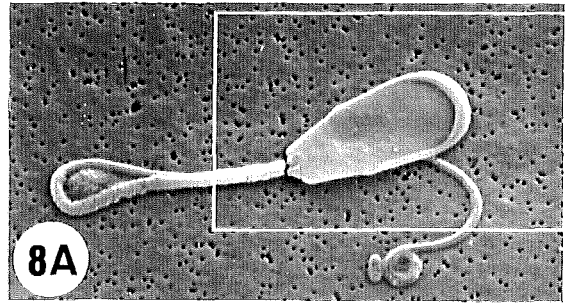
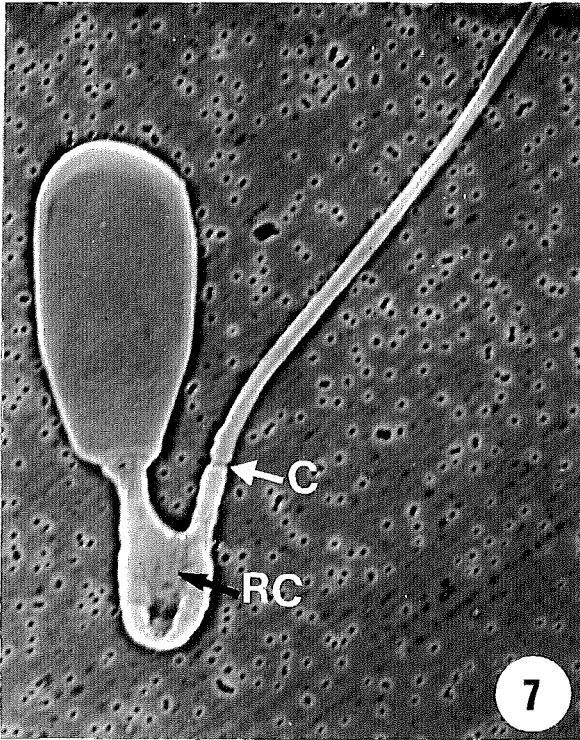
Fig. 7. Espermatozoide amb la cua doblegada per la peça intermèdia. Les restes de la gota citoplasmàtica (**RC**) cimenten la curvatura entre els dos segments de la peça intermèdia. Observeu la notable constricció (**C**) que presenta la peça intermèdia. 5000 X.

Fig. 8. A. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen i amb l'extrem enrotllat. La part enquadrada és ampliada a la **figura 8B**. 3300 X.

B. Detall del cap d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen i amb l'extrem enrotllat. La peça de connexió (**PC**) s'ha trencat just per l'extrem on comença la peça intermèdia. Les fletxes indiquen el límit de la protuberància acrosòmica (**PA**). 7400 X.

Fig. 9. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen i la part final de la cua enrotllada. Observeu el relleu de les mitocondries (**M**) al llarg de la peça intermèdia i, com l'enrotllament de la part final de la cua queda cimentat per restes de la gota citoplasmàtica (**RC**). 7500 X.

Fig. 10. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen i amb l'extrem de la cua enrotllat amb restes de la gota citoplasmàtica. 4700 X.



LÀMINA V - c

Figures: 11 a 15.

LÀMINA V-c.

Espermatozoides procedents del cap epididimari. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 11. A. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per la peça principal i amb la part final de la cua enrotllada. Observeu la profunda constricció (C) present al nivell de l'anell de Jensen. La part enquadrada és ampliada a la **figura 11B**. 3700 X.

B. Detall de les peces intermèdia i principal d'un espermatozoide amb la cua doblegada per la peça principal. Observeu les constriccions (C) que marquen les mitocondries al llarg de la peça intermèdia i una constricció (C) molt més profunda al nivell de l'anell de Jensen. 18500 X.

Fig. 12. A. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal i més de la meitat de la peça principal de la cua enrotllada. Aquest enrotllament indica l'elevada flexibilitat de la cua de l'espermatozoide en la regió cefàlica de l'epidídim. La part enquadrada és ampliada a la **figura 12B**. 4000 X.

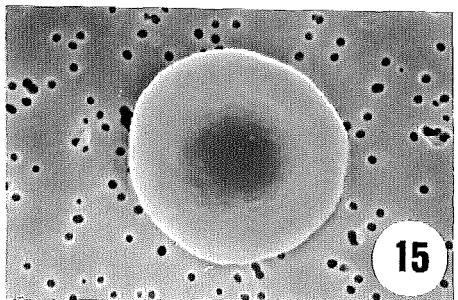
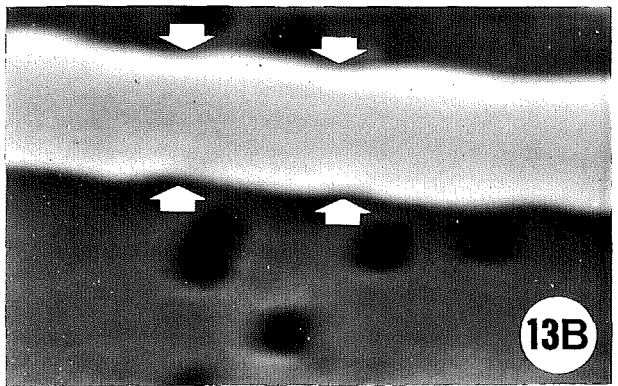
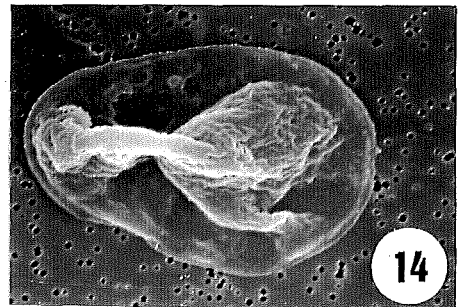
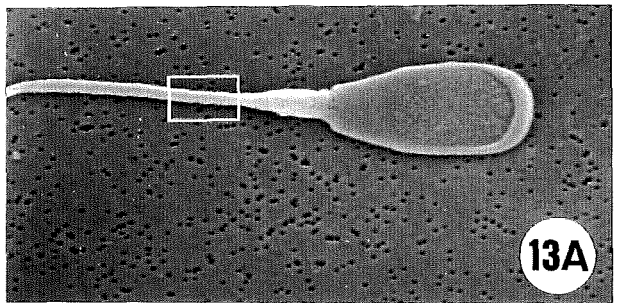
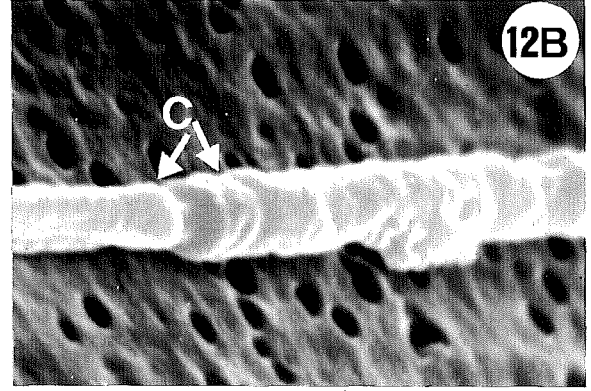
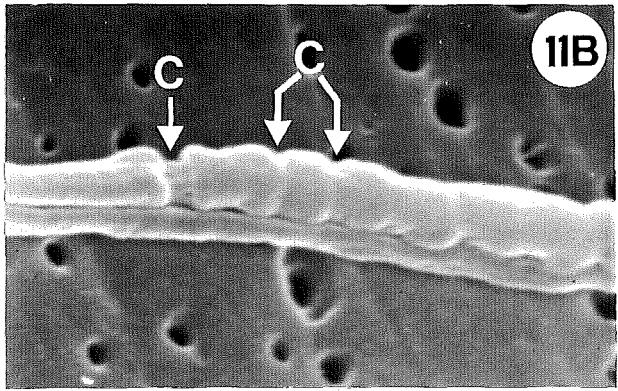
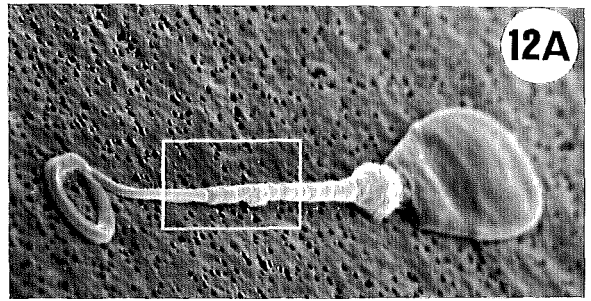
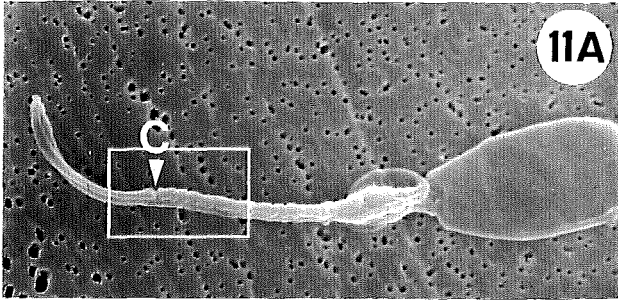
B. Detall de les peces intermèdia i principal d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal. Observeu les constriccions (C) que marquen les mitocondries al llarg de la peça intermèdia. 20000X.

Fig. 13. A. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal i més de la meitat de la peça principal de la cua enrotllada. La part enquadrada és ampliada a la **figura 13B**. 3300 X.

B. Detall de la peça intermèdia d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal. Observeu el relleu de les mitocondries al llarg de la peça intermèdia. Les fletxes indiquen la trajectòria helicoidal de les mitocondries de la beina mitocondrial. 33000 X.

Fig. 14. Espermatida. 4000 X.

Fig. 15. Glòbul vermell. 6500 X.



LÀMINA VI-a

Figures: 1 a 4.

LÀMINA VI-a.

Espermatozoides procedents del cos epididimari. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 1. A. Aspecte general d'un espermatozoide amb el cap doblegat per la regió apical. La part enquadrada és ampliada a la **figura 1B**. 2000 X.

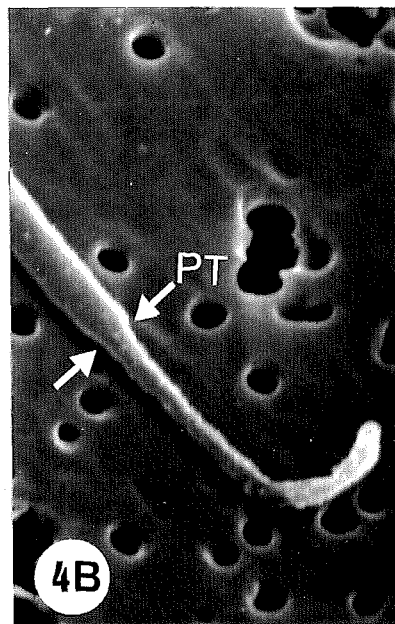
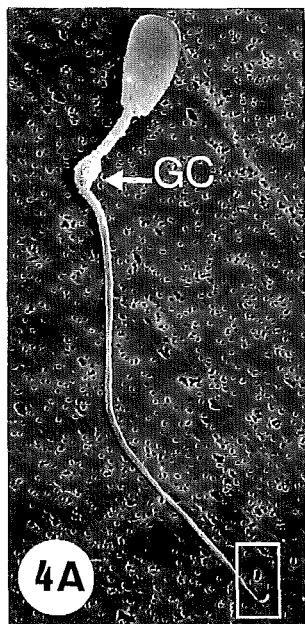
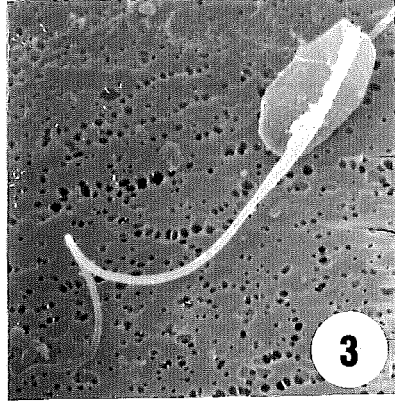
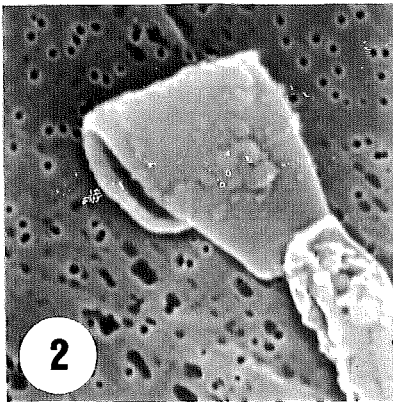
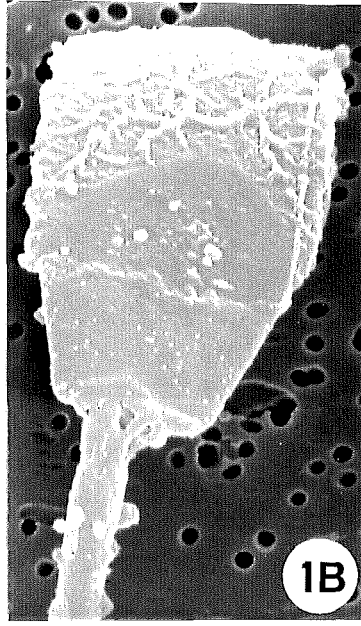
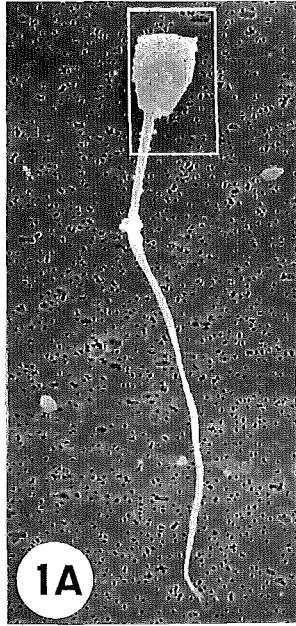
B. Detall del cap d'un espermatozoide doblegat per la seva regió apical. 10000 X.

Fig. 2. Espermatozoide amb la cua enrotllada i el cap doblegat. 6500 X.

Fig. 3. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per la peça de connexió. 2900 X.

Fig. 4. A. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb la gota citoplasmàtica en posició medio-distal. Observeu l'inici d'una lleugera curvatura de la cua al nivell de la gota citoplasmàtica (GC). La part enquadrada és ampliada a la **figura 4B**. 2000 X.

B. Detall de la peça terminal (PT) d'un espermatozoide immadur amb la gota citoplasmàtica en posició medio-distal. Les fletxes marquen el límit entre les peces principal i terminal. Observeu la diferència de diàmetre existent entre ambdues peces. 10000 X.



LÀMINA VI-b

Figures: 5 a 9.

LÀMINA VI-b.

Espermatozoides procedents del cos epididimari. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 5. Aspecte general d'un espermatozoide immadur iniciant un lleuger doblegament de la cua al nivell de la gota citoplasmàtica. 2800 X.

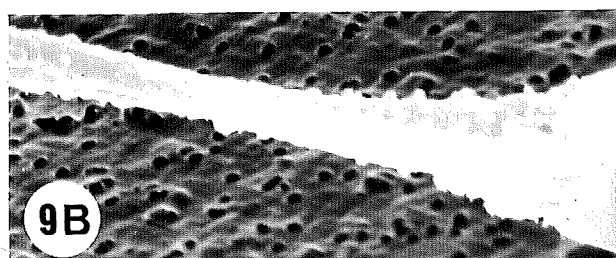
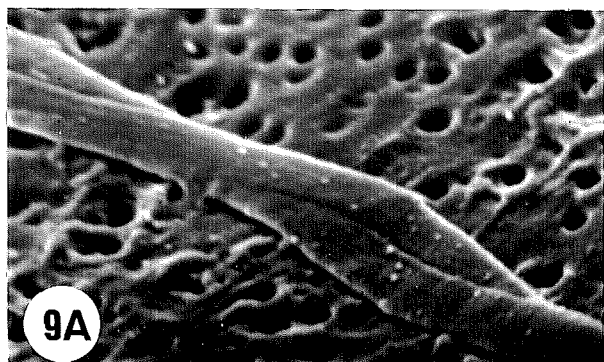
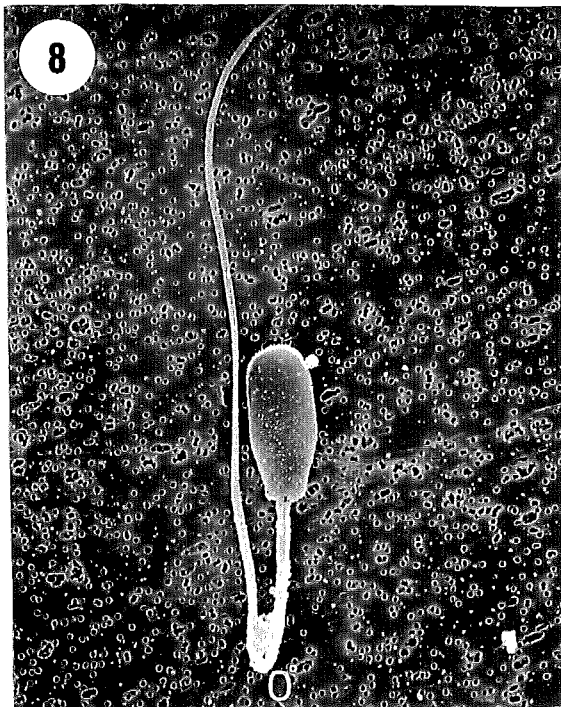
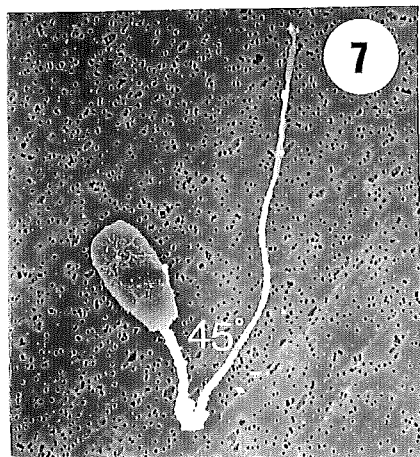
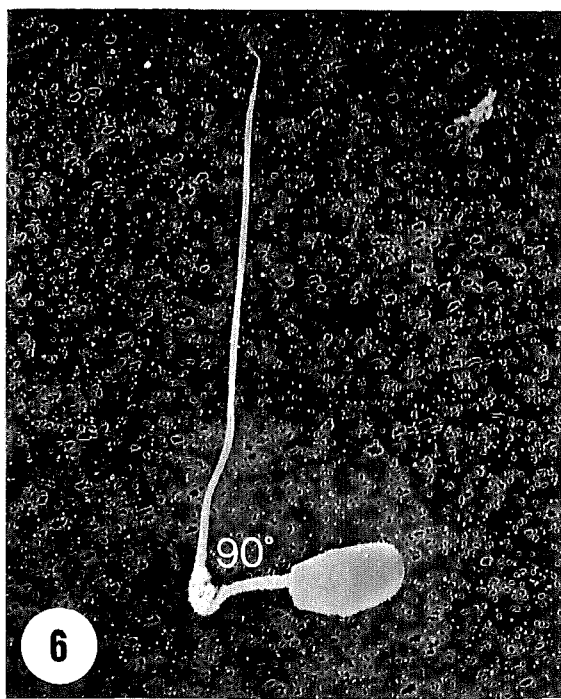
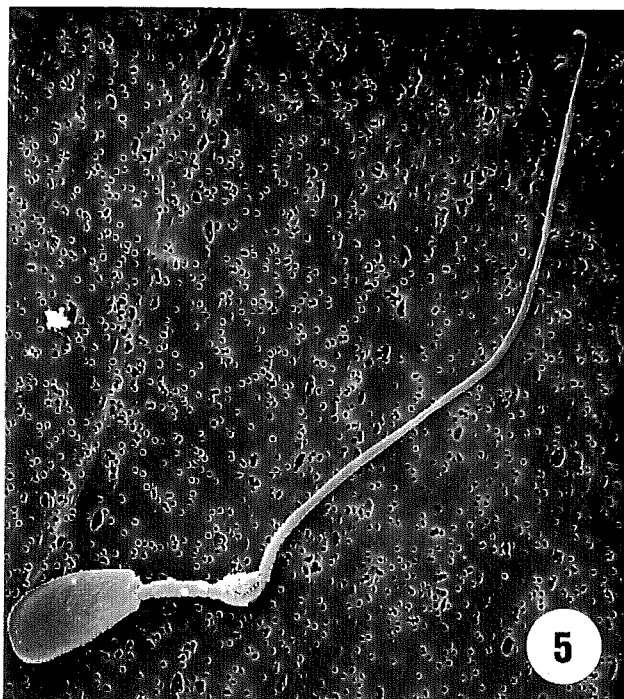
Fig. 6. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb la cua doblegada formant un angle d'uns 90° entre les peces intermèdia i principal. 2300 X.

Fig. 7. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb la cua doblegada formant un angle d'uns 45° entre les peces intermèdia i principal. 2100 X.

Fig. 8. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb la cua doblegada per l'anell de Jensen formant un angle d'uns 0° entre les peces intermèdia i principal. El doblegament de la cua queda cimentat per la gota citoplasmàtica. 2800 X.

Fig. 9. A. Detall al nivell de la peça principal d'un espermatozoide amb dues cues fusionades. Observeu la trajectòria helicoidal de les cues. 18000 X.

B. Detall al nivell de la regió d'ancoratge de la peça intermèdia d'un espermatozoide amb dues cues fusionades. 9000 X.



LÀMINA VI-c

Figures: 10 i 11.

LÀMINA VI-c.

Espermatozoides procedents del cos epididimari. Microscòpia electrònica d'escànnig.

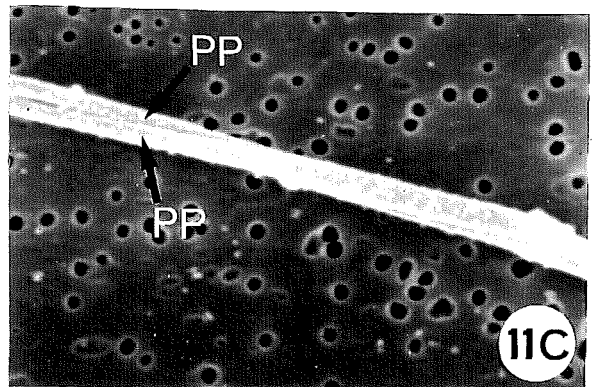
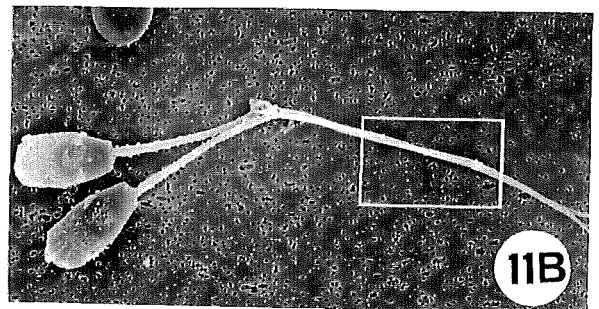
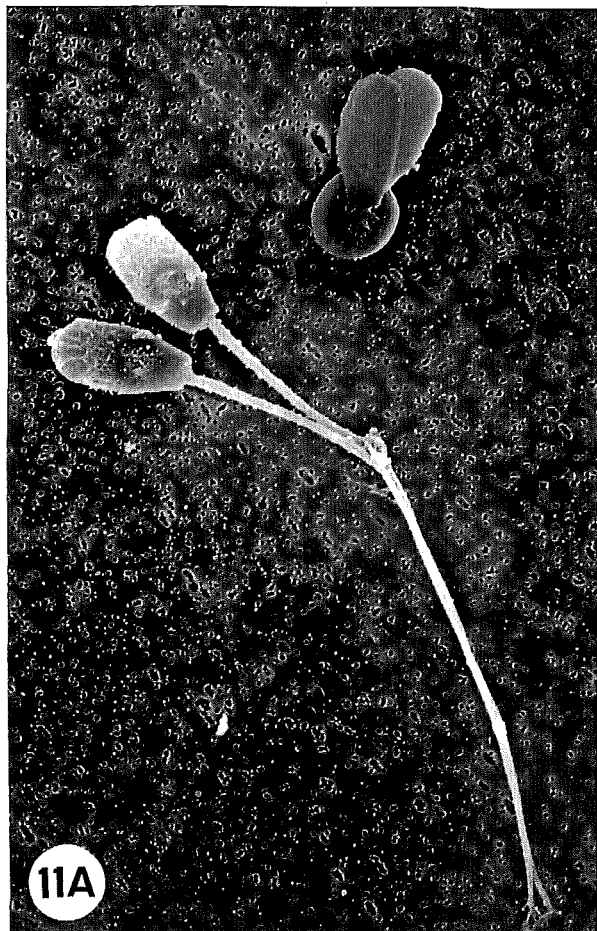
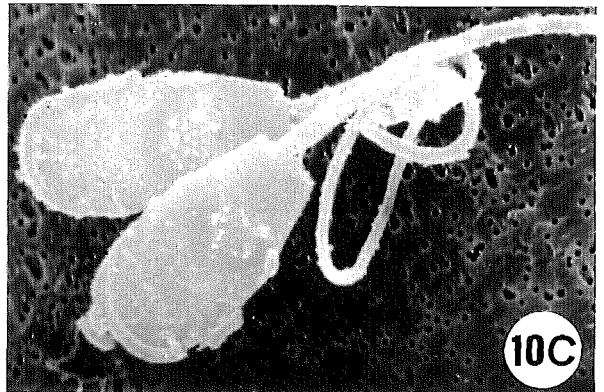
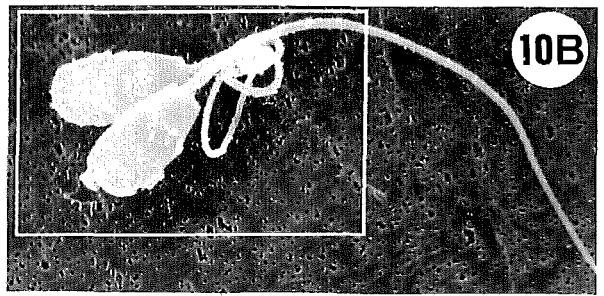
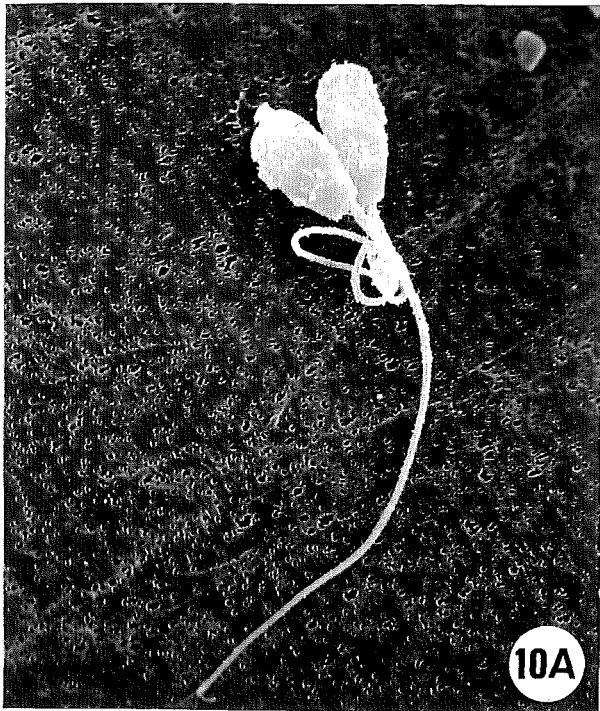
Fig. 10. A i B. Aspecte general d'un espermatozoide madur i d'un espermatozoide amb la cua parcialment enrotllada en procés de fusió. La part enquadrada és ampliada a la **figura 10C**. 2300 X.

C. Detall dels caps i les regions proximals de les peces intermèdies d'un espermatozoide madur i d'un espermatozoide amb la cua parcialment enrotllada que estan iniciant la seva fusió. 4600 X.

Fig. 11. A. Aspecte general de dos espermatozoides parcialment aglutinats per les cues. Observeu que l'aglutinació s'inicia entre les dues peces principals de les cues. En aquesta micrografia s'observa també un espermatozoide amb dos caps i la cua enrotllada. 2500 X.

B. Aspecte general de dos espermatozoides parcialment aglutinats per les cues. La part enquadrada és ampliada a la **figura 11C**. 1800 X.

C. Detall de l'aglutinació de la regió medial de les dues peces principals (**PP**). Observeu la trajectòria helicoidal de les dues peces principals. 9000 X.



LÀMINA VII-a

Figures: 1, 2 i 3.

LÀMINA VII-a.

Espermatozoides procedents de la cua epididimària. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 1. A. Aspecte general d'un espermatozoide madur per la cara del cap que presenta la protuberància acrosòmica apical. La part enquadrada és amplificada a la **figura 1B**. 1400 X.

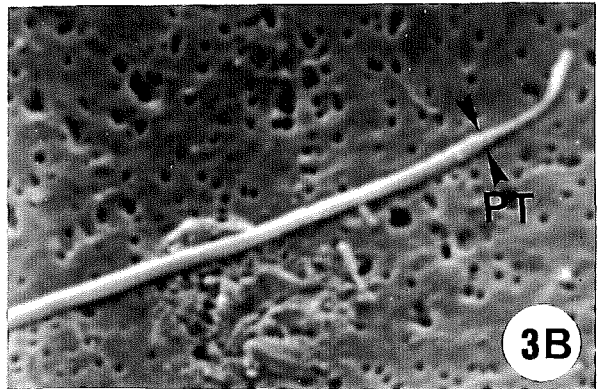
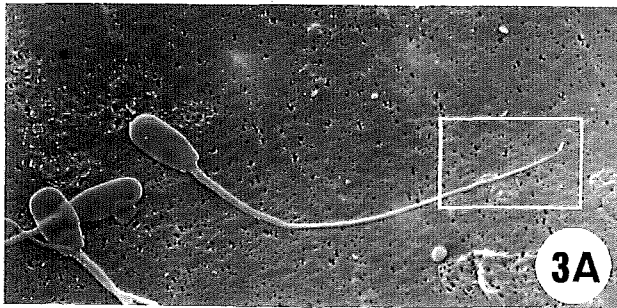
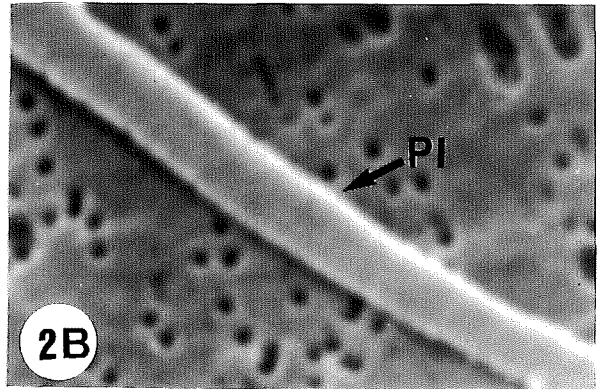
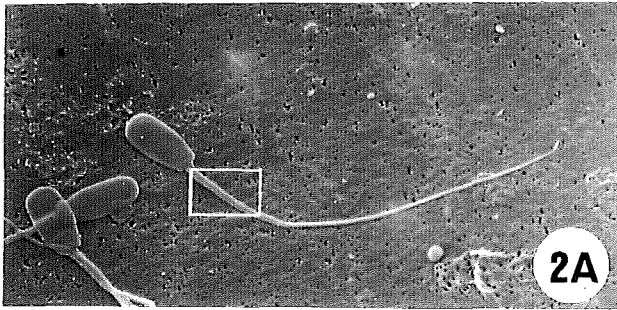
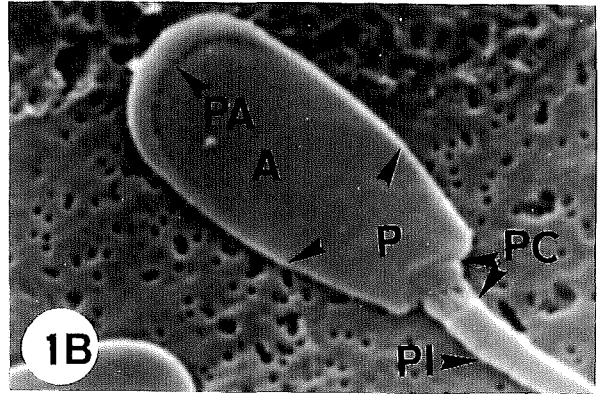
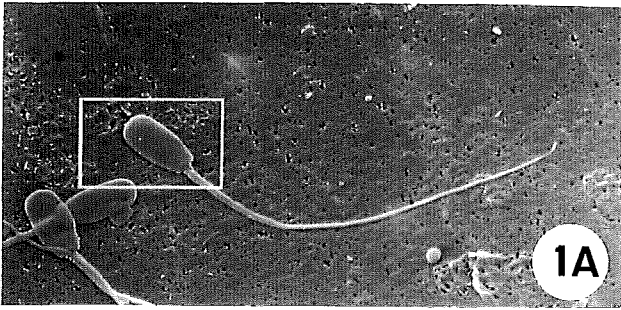
B. Detall del cap d'un espermatozoide madur per la cara del cap que presenta la protuberància acrosòmica apical (**PA**). Les fletxes marquen el límit de les regions acrosòmica (**A**) i postacrosòmica (**P**) del cap, així com de les peces de connexió (**PC**) i intermèdia (**PI**). 7000 X.

Fig. 2. A. Aspecte general d'un espermatozoide madur per la cara del cap que presenta la protuberància acrosòmica apical. La part enquadrada és amplificada a la **figura 2B**. 1400 X.

B. Detall de la peça intermèdia (**PI**) de la cua d'un espermatozoide madur. 14000 X.

Fig. 3. A. Aspecte general d'un espermatozoide madur per la cara del cap que presenta la protuberància acrosòmica apical. La part enquadrada és amplificada a la **figura 3B**. 1400 X.

B. Detall de les peces principal i terminal (**PT**) de la cua d'un espermatozoide madur. Les fletxes marquen el límit entre les peces principal i terminal. Observeu la diferència de diàmetre entre ambdues peces. 7000 X.



LÀMINA VII-b

Figures: 4 a 7.

LÀMINA VII-b.

Espermatozoides procedents de la cua epididimària. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 4. A. Aspecte general d'un espermatozoide amb el cap lleugerament deprimít i dues cues fusionades. La part enquadrada és ampllada a la **figura 4B**. 1350 X.

B. Detall del cap lleugerament deprimít d'un espermatozoide per la cara del cap que presenta la protuberància acrosòmica (**PA**). Les fletxes indiquen el límit de la protuberància acrosòmica. Observeu la fusió de les cues per les peces intermèdies. 6750 X.

Fig. 5. A. Aspecte general d'un espermatozoide madur per la cara del cap que presenta la protuberància acrosòmica (**PA**). La part enquadrada és ampllada a la **figura 5B**. 1400 X.

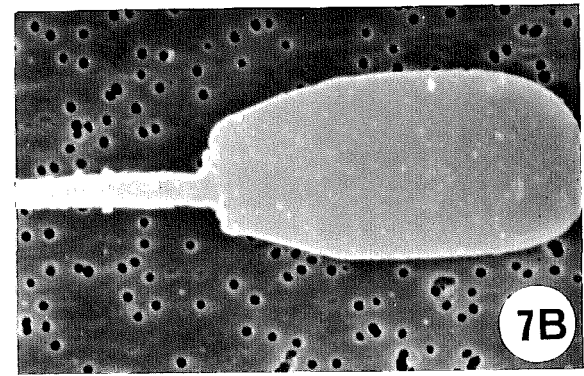
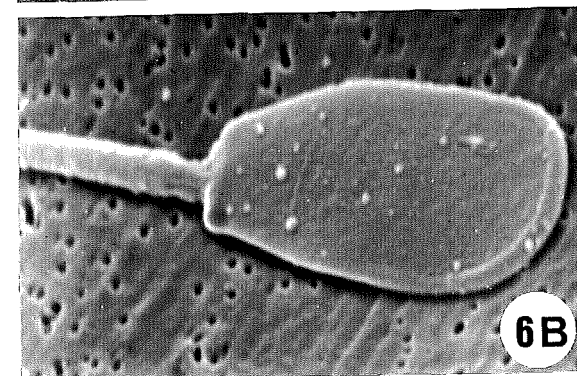
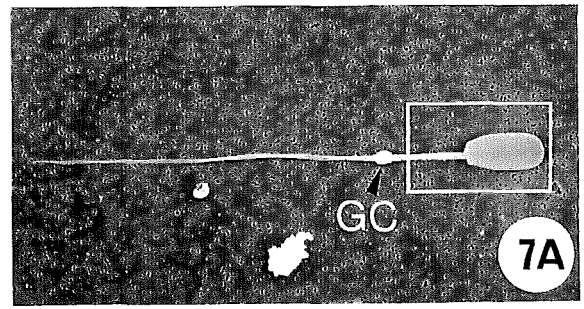
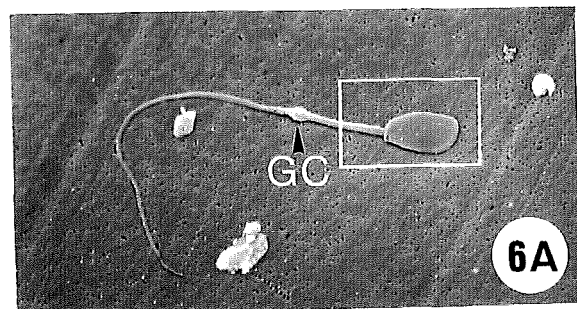
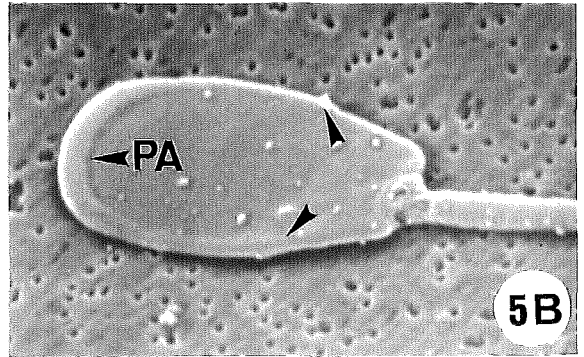
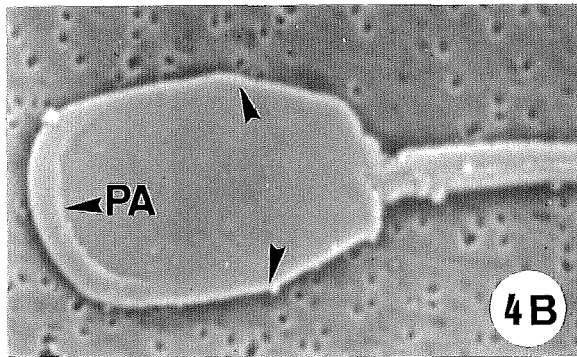
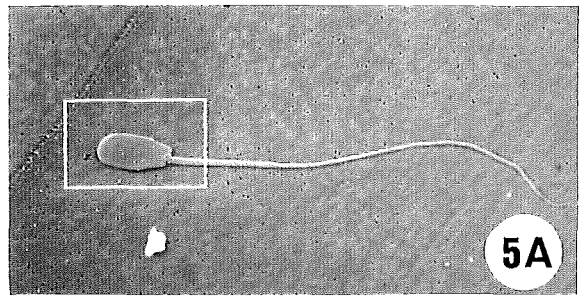
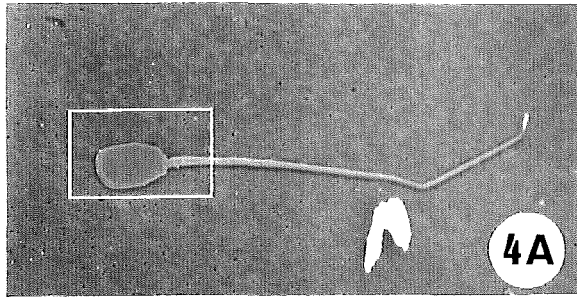
B. Detall del cap i la peça de connexió d'un espermatozoide madur per la cara del cap que presenta la protuberància acrosòmica (**PA**). Les fletxes indiquen el límit de la protuberància acrosòmica. 7000 X.

Fig. 6. A. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (**GC**) per la cara del cap que presenta la protuberància acrosòmica apical. La part enquadrada és ampllada a la **figura 6B**. 1400 X.

B. Detall del cap i de la peça de connexió d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (**GC**) per la cara del cap que presenta la protuberància acrosòmica (**PA**). 7000 X.

Fig. 7. A. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (**GC**) per la cara plana del cap. La part enquadrada és ampllada a la **figura 7B**. 1400 X.

B. Detall del cap i de la peça de connexió d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (**GC**) per la cara plana del cap. 7000 X.



LÀMINA VII-c

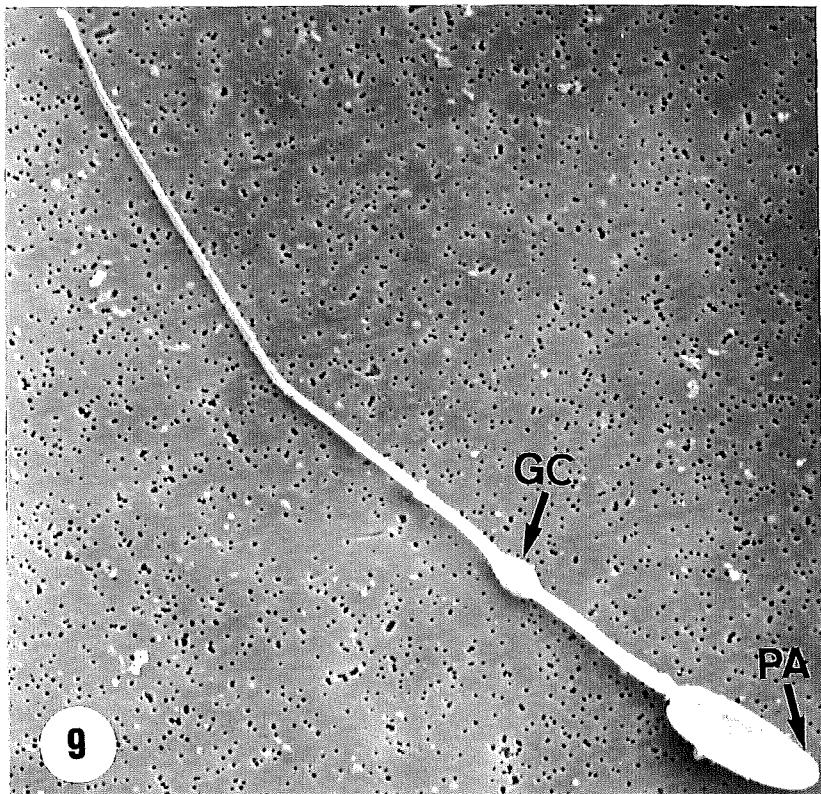
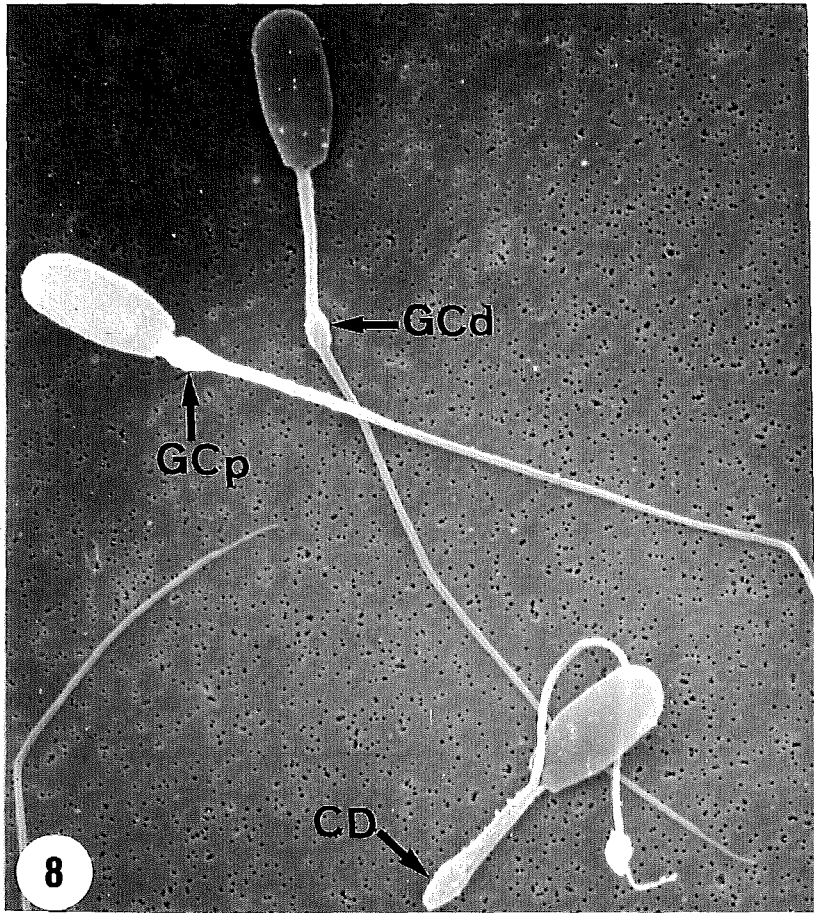
Figures: 8 i 9.

LÀMINA VII-c.

Espermatozoides procedents de la cua epididimària. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 8. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal (**GCp**), d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (**GCd**) i d'un espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen (**CD**). En el cas de l'espermatozoide amb la cua doblegada per l'anell de Jensen, la peça principal es fusiona amb la peça intermèdia, però no amb el cap. 2750 X.

Fig. 9. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (**GC**). **PA**, protuberància acrosòmica. 3150 X.



LÀMINA VII-d

Figures: 10, 11 i 12.

LÀMINA VII-d.

Espermatozoides procedents de la cua epididimària. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 10. A. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. La part enquadrada és ampliada a la **figura 10B**. 1800 X.

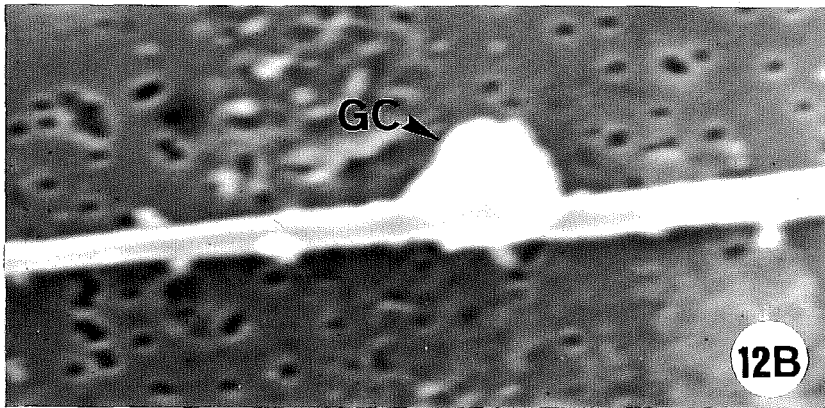
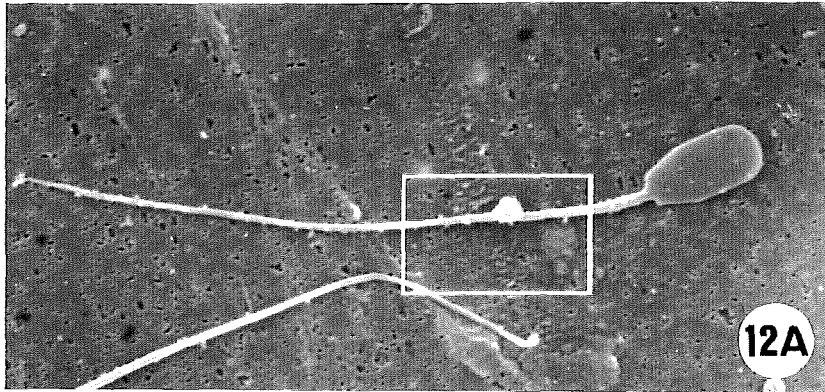
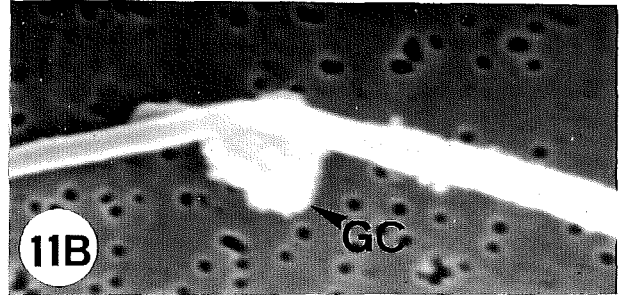
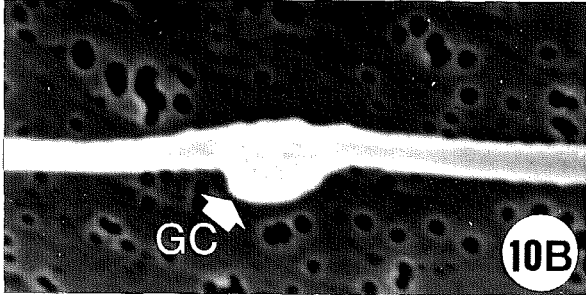
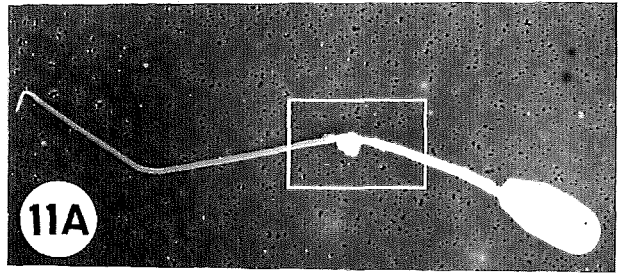
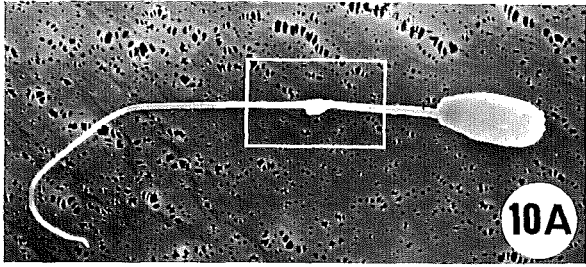
B. Detall de la gota citoplasmàtica distal (**GC**) d'un espermatozoide immadur. 9000 X.

Fig. 11. A. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal a punt de desprendre's. La part enquadrada és ampliada a la **figura 11B**. 1800 X.

B. Detall de la gota citoplasmàtica distal (**GC**) a punt de desprendre's. Observeu la lleugera curvatura de la cua en la regió on es troba la gota citoplasmàtica. 9000 X.

Fig. 12. A. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (**GC**) desprenent-se. La part enquadrada és ampliada a la **figura 12B**. 2130 X.

B. Detall de la gota citoplasmàtica distal que s'està desprenent. Observeu la lleugera curvatura de la cua en la regió on es troba la gota citoplasmàtica. 10650 X.



LÀMINA VII-e

Figures: 13 a 17.

LÀMINA VII-e.

Espermatozoides procedents de la cua epididimària. Microscòpia electrònica d'escànnig.

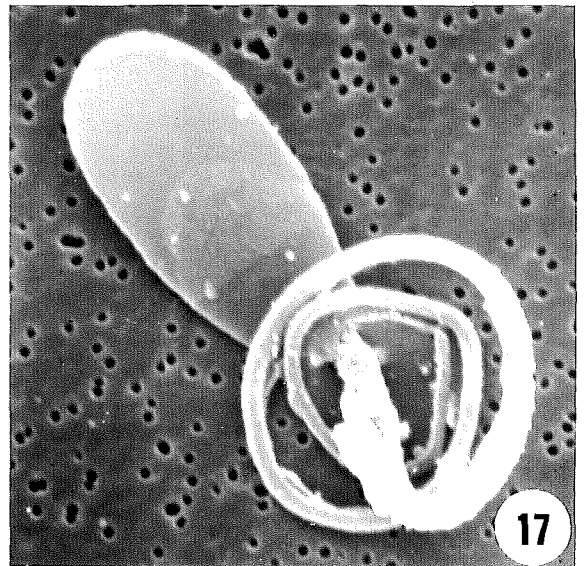
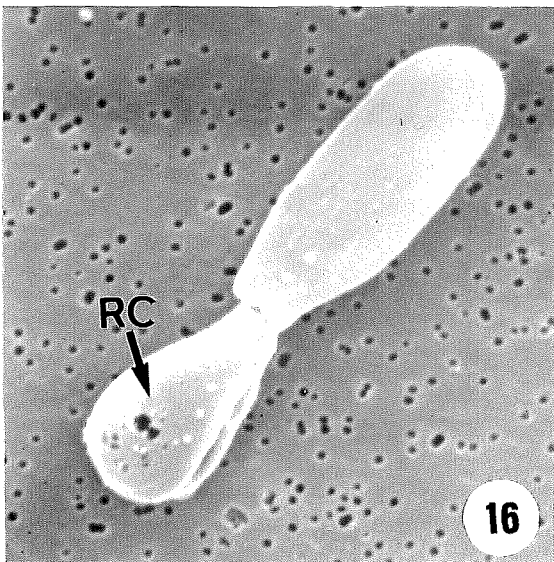
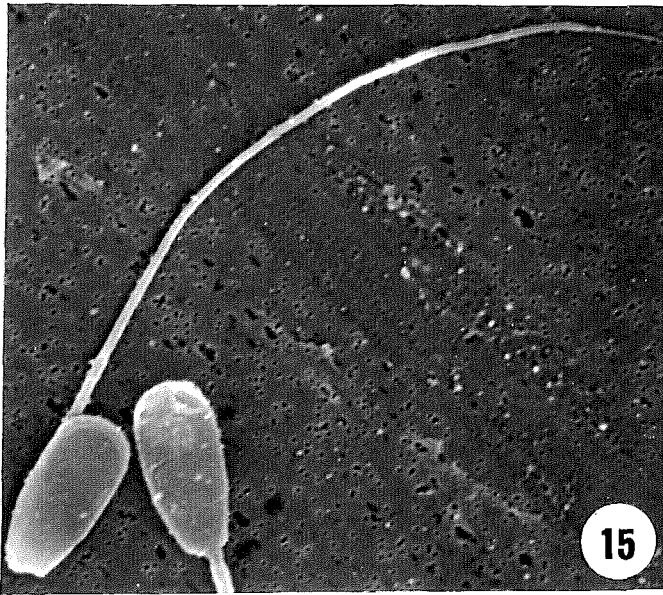
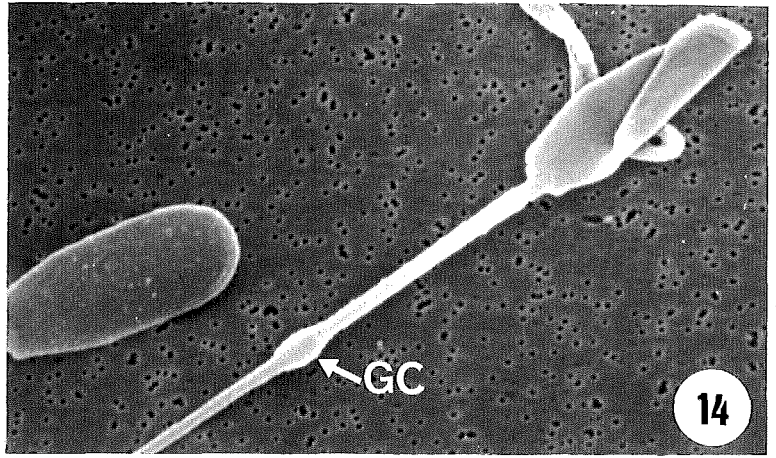
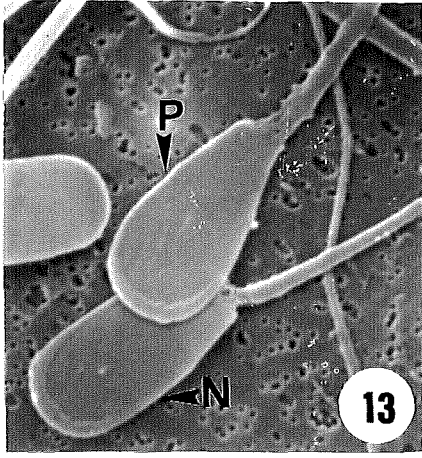
Fig. 13. Espermatozoide amb el cap piriforme (P) i espermatozoide de cap normal (N). 4100 X.

Fig. 14. Espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (GC) i amb el cap doblegat lateralment des de la regió medio-apical del cap. 4650 X.

Fig. 15. Aspecte general d'un espermatozoide amb la cua doblegada per la peça de connexió. 3150 X.

Fig. 16. Espermatozoide amb la cua enrotllada. Observat el poc desenvolupament de l'enrotllament, és possible que a la cua li falti alguna de les seves peces. L'enrotllament es disposa en un pla paral·lel a la cara plana del cap i queda cimentat per restes de la gota citoplasmàtica (RC). 6400 X.

Fig. 17. Espermatozoide amb la cua enrotllada. La cua, amb totes les seves peces, s'enrotlla al voltant del primer terç de la peça intermèdia. 7200 X.



LÀMINA VII-f

Figures: 18 a 21.

LÀMINA VII-f.

Espermatozoides procedents de la cua epididimària. Microscòpia electrònica d'escànnning.

Fig. 18. A. Aspecte general d'un espermatozoide amb ancoratge lateral de la cua i una petita protuberància en el primer terç de la peça principal de la cua. La part enquadrada és amplada a la **figura 18B**. 1800 X.

B. Detall de la peça de connexió (**PC**) d'un espermatozoide amb ancoratge lateral de la cua (**al**). **C**, cap; **PI**, peça intermèdia. 9000 X.

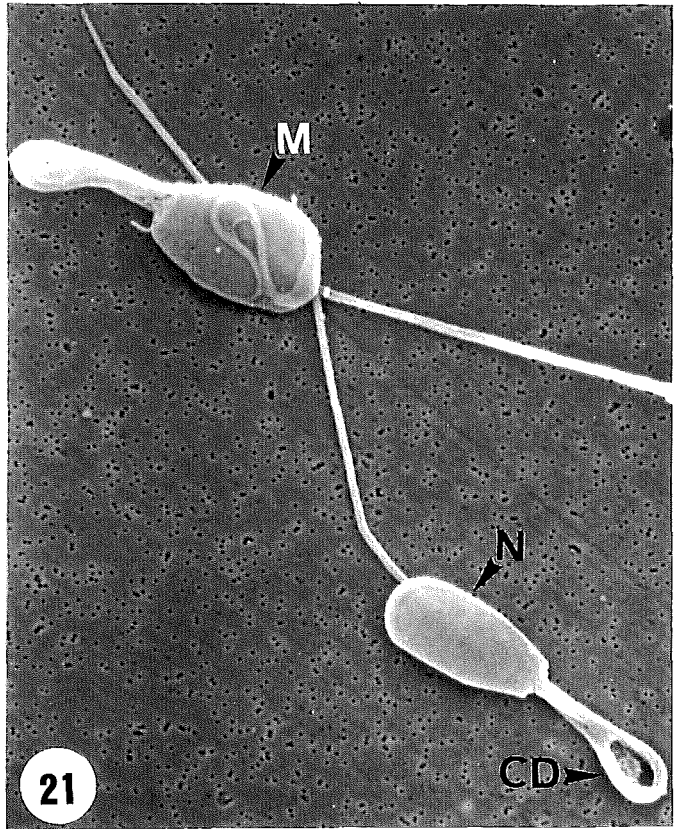
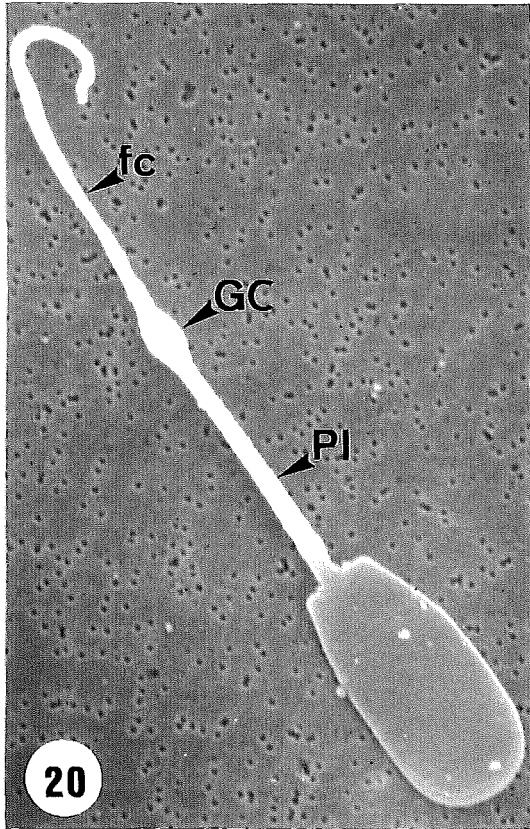
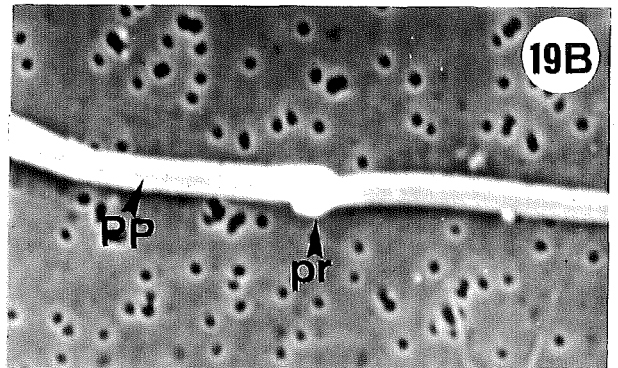
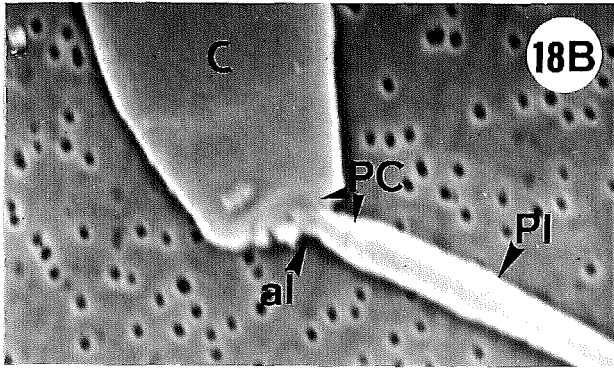
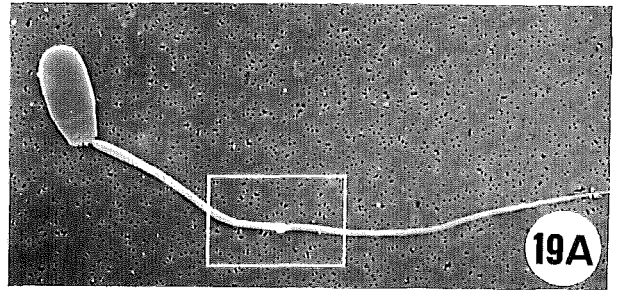
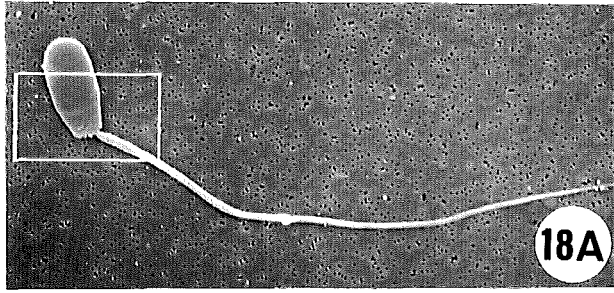
Fig. 19. A. Aspecte general d'un espermatozoide amb ancoratge lateral de la cua i una petita protuberància en el primer terç de la peça principal de la cua. La part enquadrada és amplada a la **figura 19B**. 1800 X.

B. Detall de la petita protuberància (**pr**) que presenta en el primer terç de la peça principal (**PP**) de la cua. 9000 X.

Fig. 20. Aspecte general d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (**GC**) i amb la cua curta. A la cua li manca una part de la peça principal (**fg**). **PI**, peça intermèdia. 5000 X.

Fig. 21. Aspecte general d'un espermatozoide macrocefàlic (**M**) amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. La peça principal es fusiona amb la peça intermèdia i, replegant-se sobre si mateixa, es fusiona completament amb el cap.

En aquesta micrografia s'observa també un espermatozoide amb el cap morfològicament normal i amb la cua doblegada per l'anell de Jensen. 3150 X.



LÀMINA VII-g

Figures: 22, 23 i 24.

LÀMINA VII-g.

Espermatozoides procedents de la cua epididimària. Microscòpia electrònica d'escànnig.

Fig. 22. A. Aspecte general d'un espermatozoide amb dues cues fusionades. La part enquadrada és amplada a la **figura 22B**. 1400 X.

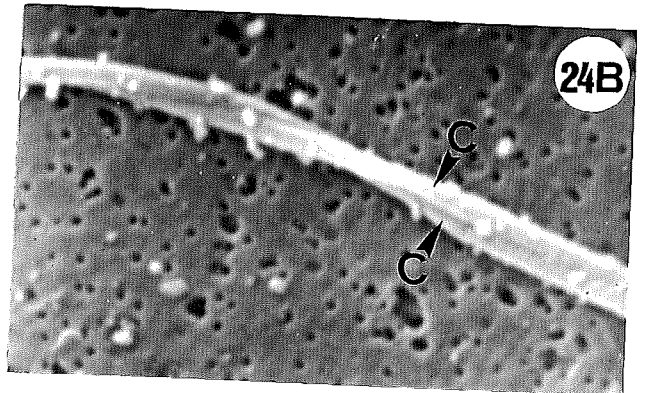
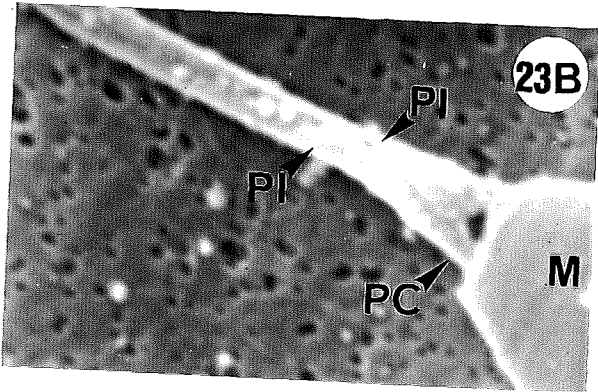
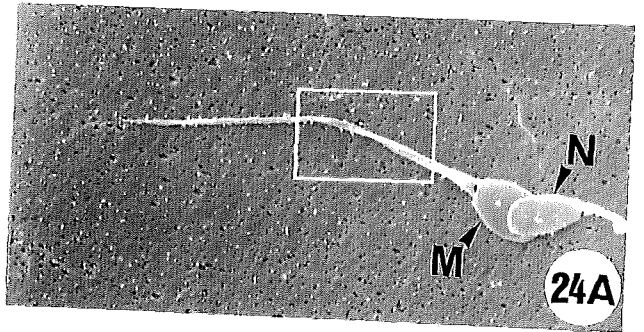
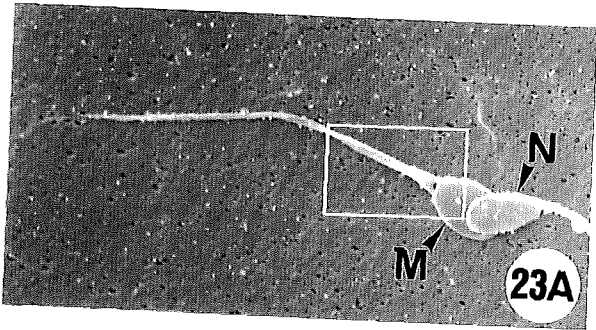
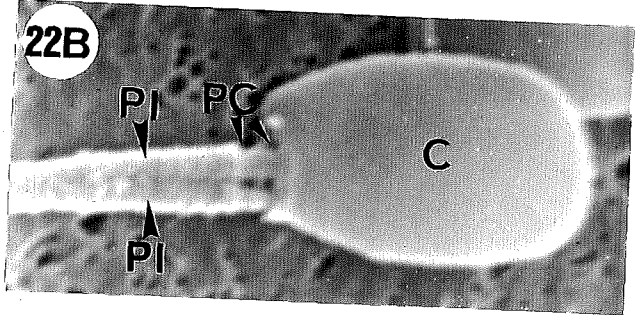
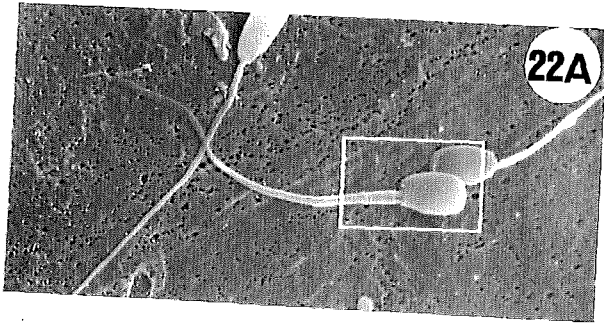
B. Detall del cap (C), peça de connexió (PC) i peces intermèdies (PI) d'un espermatozoide amb dues cues fusionades. 7000 X.

Fig. 23. A. Aspecte general d'un espermatozoide macrocefàlic (M) amb dues cues fusionades. Compareu amb l'espermatozoide de cap morfològicament normal (N) que té superposat. La part enquadrada és amplada a la **figura 23B**. 1400 X.

B. Detall del cap macrocefàlic (M), peça de connexió (PC) i peces intermèdies (PI) de les dues cues fusionades. 7000 X.

Fig. 24. A. Aspecte general d'un espermatozoide macrocefàlic (M) amb dues cues fusionades. Compareu amb l'espermatozoide de cap morfològicament normal (N) que té superposat. La part enquadrada és amplada a la **figura 24B**. 1400 X.

B. Detall de les dues cues (C) fusionades al nivell de les peces intermèdia i principal. Observeu la trajectòria helicoidal de les dues cues fusionades. 7000 X.



LÀMINA VIII-a

Figures: 1 i 2.

LÀMINA VIII-a.

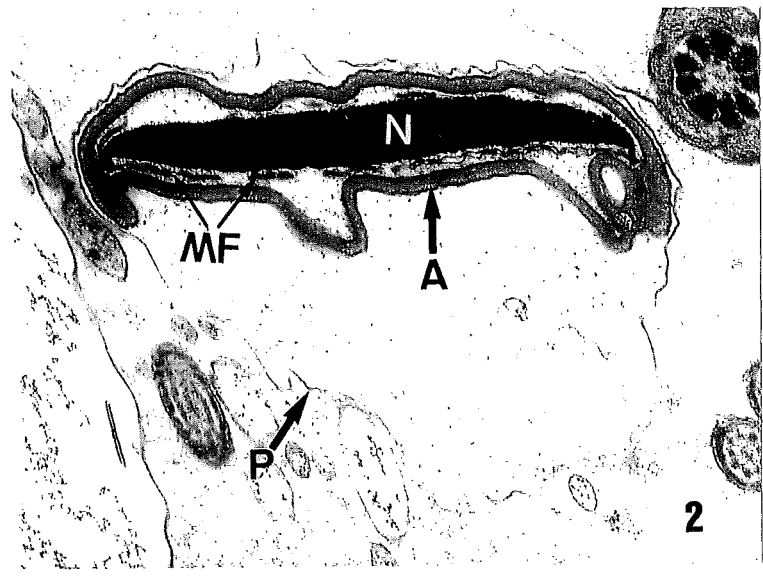
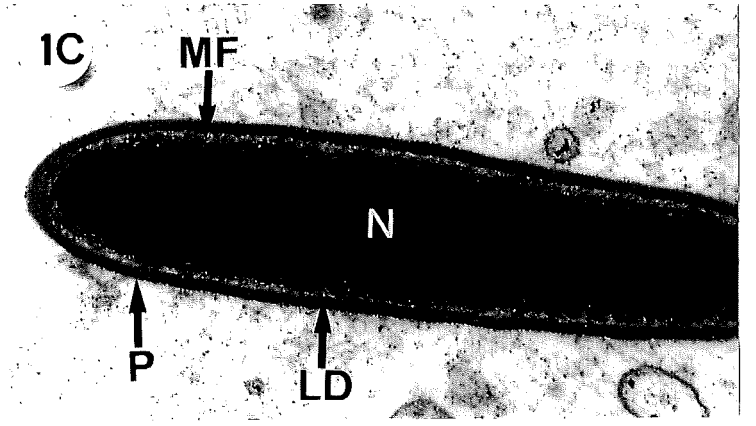
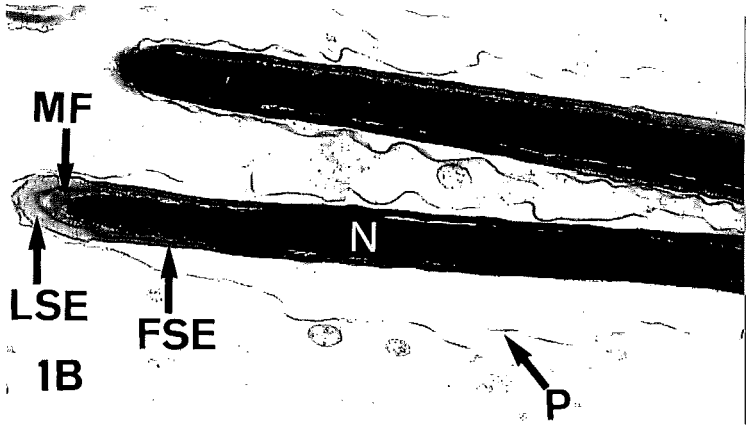
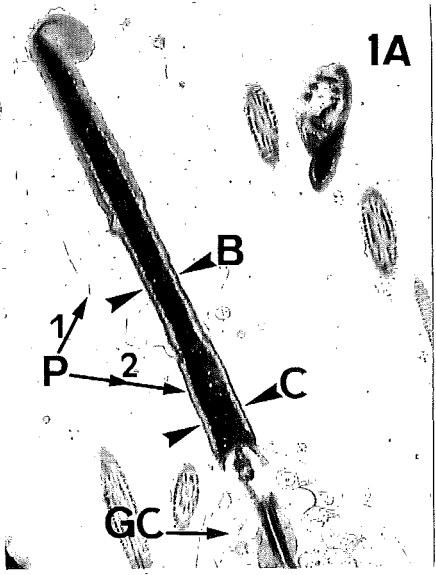
Espermatozoides procedents del cap epididimari. Microscòpia electrònica de transmissió.

Fig. 1. A. Secció longitudinal del cap d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal (**GC**). La membrana plasmàtica (**P**) està separada de la vesícula acrosòmica en els segments principal i equatorial (**1**), però es manté estretament unida a la làmina densa postacrosòmica (**2**). **B.** secció transversal al nivell del segment equatorial de la regió acrosòmica (vegeu **figura 1B**); **C.** secció transversal al nivell de la regió postacrosòmica (vegeu **figura 1C**). 9000 X.

B. Secció transversal del segment equatorial de la regió acrosòmica del cap d'un espermatozoide. Observeu la membrana plasmàtica (**P**) separada de la vesícula acrosòmica. **FSE**, zona frontal del segment equatorial de la vesícula acrosòmica; **LSE**, zona lateral del segment equatorial de la vesícula acrosòmica; **MF**, material fibrós subacrosòmic; **N**, nucli. 25500 X.

C. Secció transversal de la regió postacrosòmica del cap d'un espermatozoide. Observeu la membrana plasmàtica (**P**) unida estretament a la làmina densa postacrosòmica (**LD**). **MF**, material fibrós perinuclear; **N**, nucli. 45000 X.

Fig. 2. Secció transversal a través del cap d'un espermatozoide que presenta una vesícula acrosòmica anormal (**A**). El material fibrós subacrosòmic (**MF**) presenta una disposició atípica. **N**, nucli; **P**, plasmalema. 25500 X.



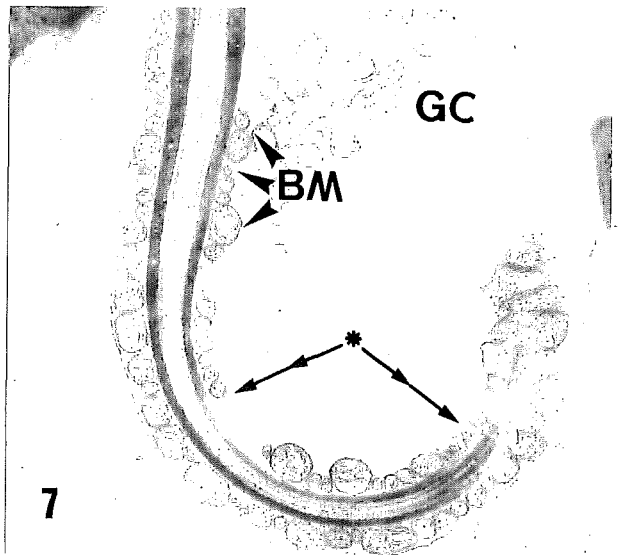
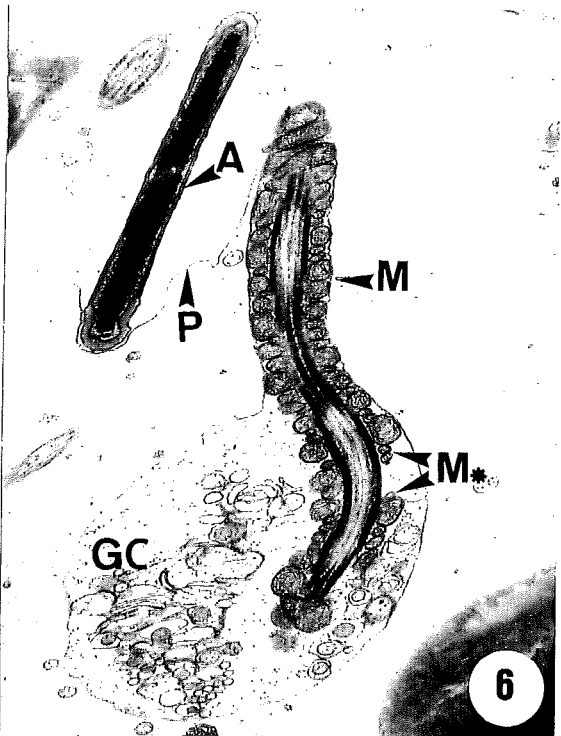
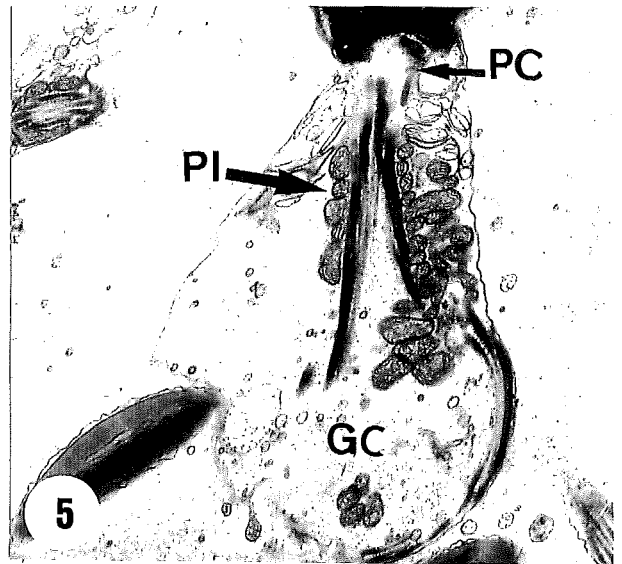
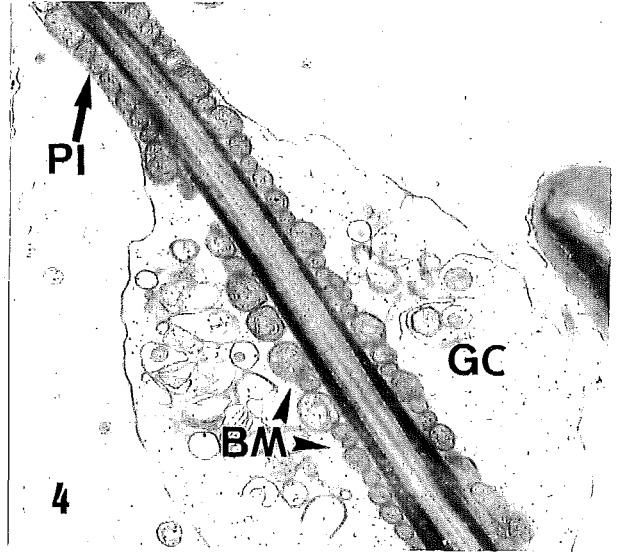
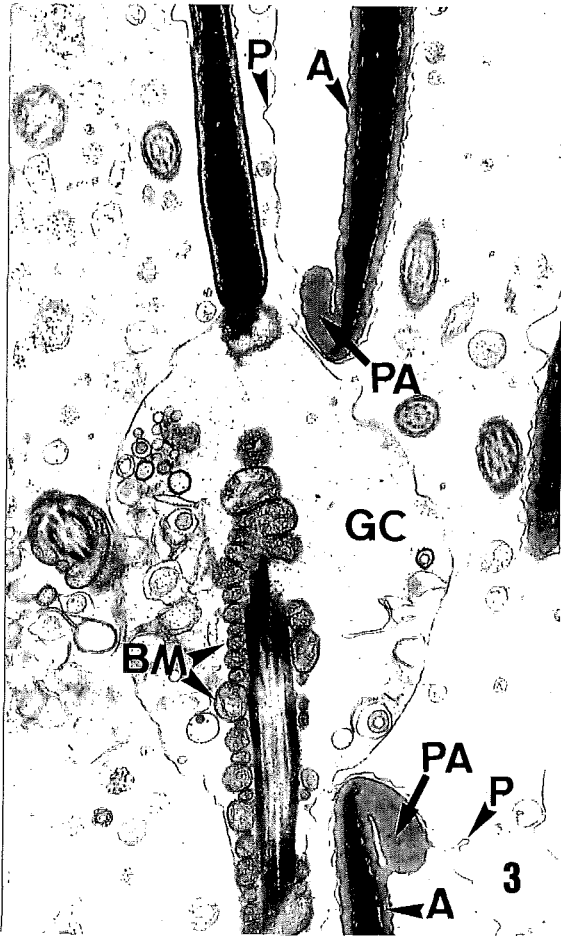
LÀMINA VIII-b

Figures: 3 a 7.

LÀMINA VIII-b.

Espermatozoides procedents del cap epididimari. Microscòpia electrònica de transmissió.

- Fig. 3.** Secció longitudinal d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal. Observeu la desorganització de la beina mitocondrial (**BM**) a la regió de la gota citoplasmàtica (**GC**). En aquesta micrografia s'observen també dues seccions longitudinals del cap de dos espermatozoides que presenten una gran protuberància acrosòmica (**PA**), escassa electrodensitat del contingut acrosòmic i una gran separació entre la membrana plasmàtica (**P**) i la vesícula acrosòmica (**A**). 16200 X.
- Fig. 4.** Secció longitudinal d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica medio-distal. Observeu el desigual desenvolupament de les mitocondries de la beina mitocondrial (**BM**) a la regió de la gota citoplasmàtica (**GC**). Vegeu la disposició més regular de les mitocondries en la zona de la peça intermèdia (**PI**) no ocupada per la gota citoplasmàtica. 18000 X.
- Fig. 5.** Secció longitudinal d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal. Observeu la desorganització dels elements estructurals de les peces de connexió (**PC**) i intermèdia (**PI**) dins la gota citoplasmàtica (**GC**). 13500 X.
- Fig. 6.** Secció obliqua de la peça intermèdia d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica medio-distal. Observeu la disposició regular de les mitocondries (**M**) a la zona de la peça intermèdia no ocupada per la gota citoplasmàtica (**GC**) i la desorganització de les mitocondries (**M***) dins la gota citoplasmàtica. **A**, vesícula acrosòmica; **P**, plasmalema. 15000 X.
- Fig. 7.** Secció longitudinal d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal. Observeu la irregular disposició i escassa homogeneïtat de la mida de les mitocondries de la beina mitocondrial (**BM**) dins la gota citoplasmàtica (**GC**). Cal destacar l'elevada flexibilitat de la peça intermèdia (*) dins la gota citoplasmàtica. 18000 X.



LÀMINA VIII-C

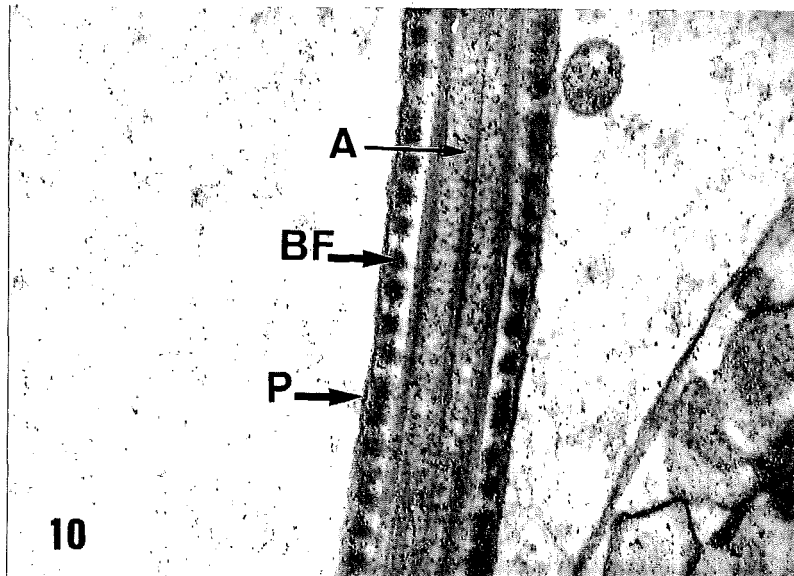
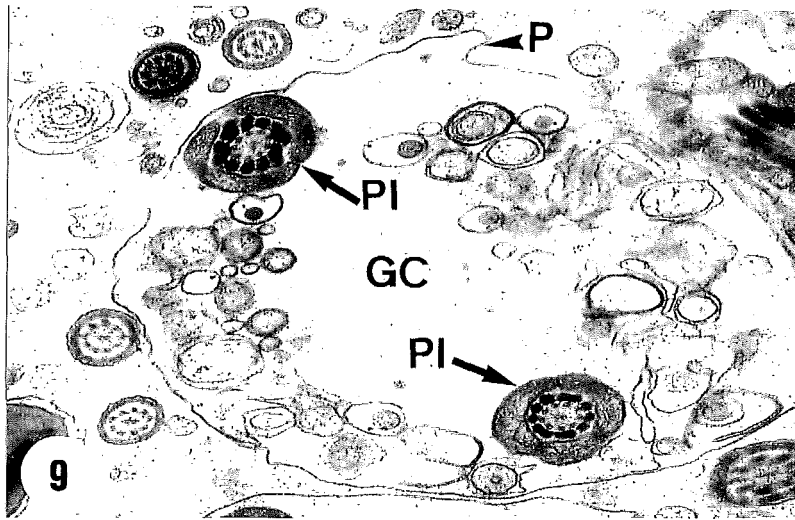
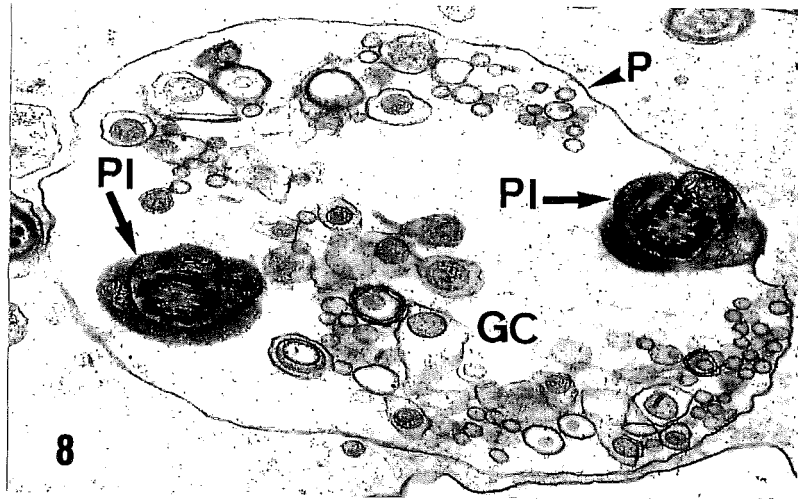
Figures: 8, 9 i 10.

LÀMINA VIII-c.

Espermatozoides procedents del cap epididimari. Microscòpia electrònica de transmissió.

Fig. 8 i 9. Seccions transversals a través de la gota citoplasmàtica (GC) d'espermatozoides immadurs que presenten la cua doblegada al nivell de la peça intermèdia (PI). P, plasmalema. 25500 X.

Fig. 10. Secció longitudinal de la peça principal de la cua d'un espermatozoide. Observeu la correcta disposició i forma de tots els elements estructurals d'aquesta peça. A, axonema; BF, beina fibrosa; P, plasmalema. 75000 X.





LÀMINA IX

Figures: 1 a 5.

LÀMINA IX.

Espermatozoides procedents de la cua epididimària. Microscòpia electrònica de transmissió.

Fig. 1. A. Secció longitudinal del cap d'un espermatozoide en la qual es poden observar els tres segments de la vesícula acrosòmica: segment apical (**SA**), segment principal (**SP**) i segment equatorial (**SE**). La membrana plasmàtica (**P**) es manté separada de la vesícula acrosòmica i estretament unida a la làmina densa postacrosòmica (**LD**). **B.** secció transversal al nivell del segment principal de la vesícula acrosòmica (vegeu figura 1B). 16000 X.

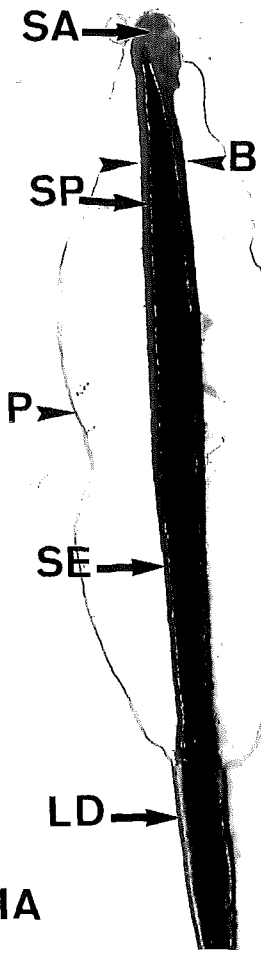
B. Secció transversal del segment principal de la vesícula acrosòmica del cap d'un espermatozoide. Observeu la separació existent entre la membrana plasmàtica (**P**) i la vesícula acrosòmica. **CP**, cara plana del cap; **CNP**, cara no plana del cap; **FSP**, zona frontal del segment principal de la vesícula acrosòmica; **LSP**, zona lateral del segment principal de la vesícula acrosòmica; **N**, nucli. 30000 X.

Fig. 2. Secció transversal al nivell del segment principal de la vesícula acrosòmica del cap d'un espermatozoide. Observeu la gran separació que hi ha entre la membrana plasmàtica (**P**) i la vesícula acrosòmica (**A**). El citoplasma residual que ocupa aquest espai es caracteritza per la presència de nombroses vesícules que es concentren a la perifèria de la gota citoplasmàtica (**GC**). Algunes vesícules estan limitades per una única membrana (**UM**) i altres per una doble membrana (**DM**). **N**, nucli. 24000 X.

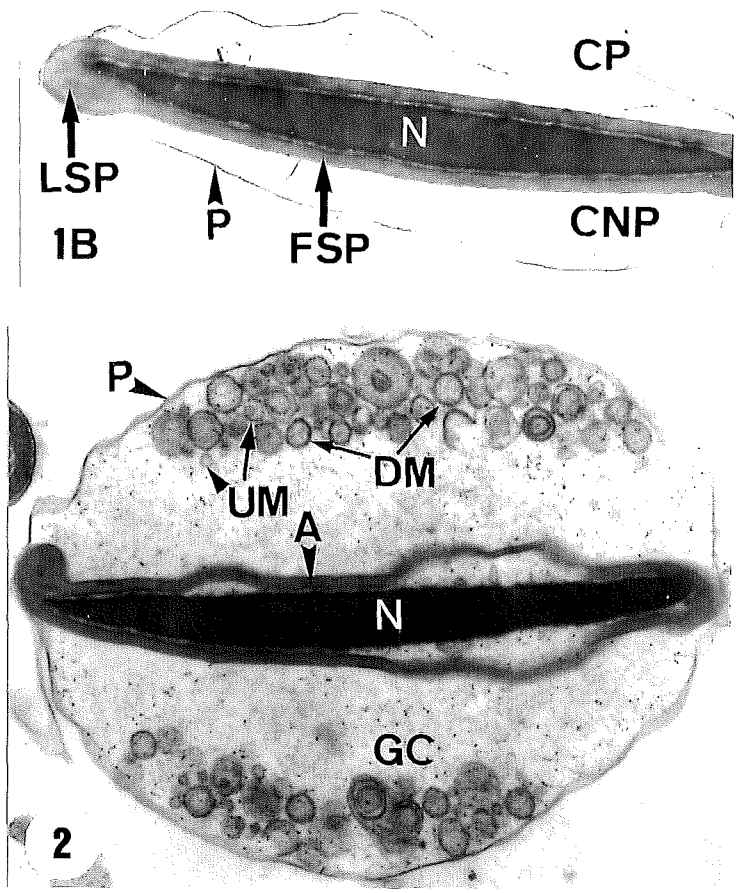
Fig. 3. Secció longitudinal de la base del cap i la peça de connexió d'un espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica medial (**GC**). Observeu la desorganització de les mitocondries en la beina mitocondrial (**BM**). En aquesta micrografia es poden observar les columnes segmentades (**CS**) i els cossos laminars (**CL**) de la peça de connexió. **N**, nucli. 30000 X.

Fig. 4. Secció transversal d'un espermatozoide amb la cua doblegada. Es poden observar les peces intermèdia (**PI**) i principal (**PP**) envoltades i cimentades per la gota citoplasmàtica (**GC**). Ambdues peces mostren irregularitats; la peça principal presenta l'axonema (**A**) desorganitzat i la peça intermèdia presenta una beina mitocondrial (**BM**) anòmala (compareu amb la secció transversal d'una peça intermèdia normal (**PI***)). 30000 X.

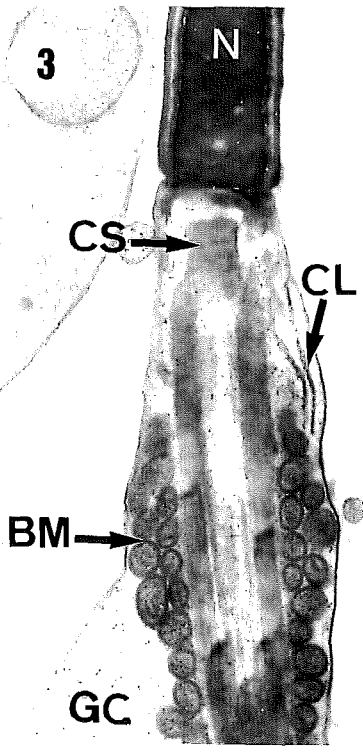
Fig. 5. Grànuls de secreció lliures entre l'esperma epididimària. 4000 X.



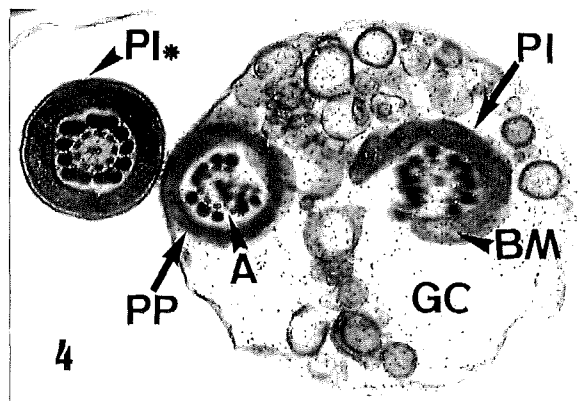
1A



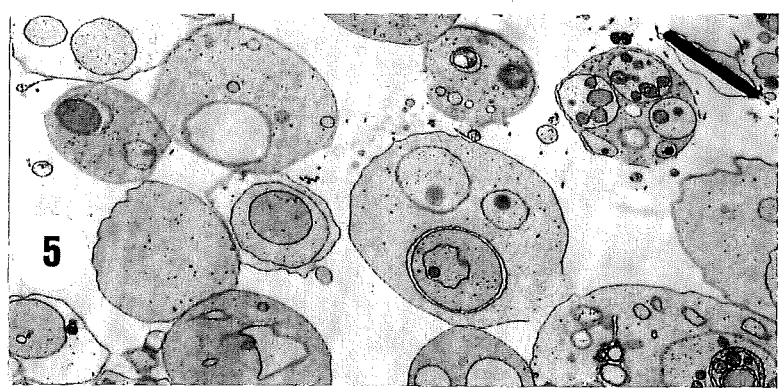
2



3



4



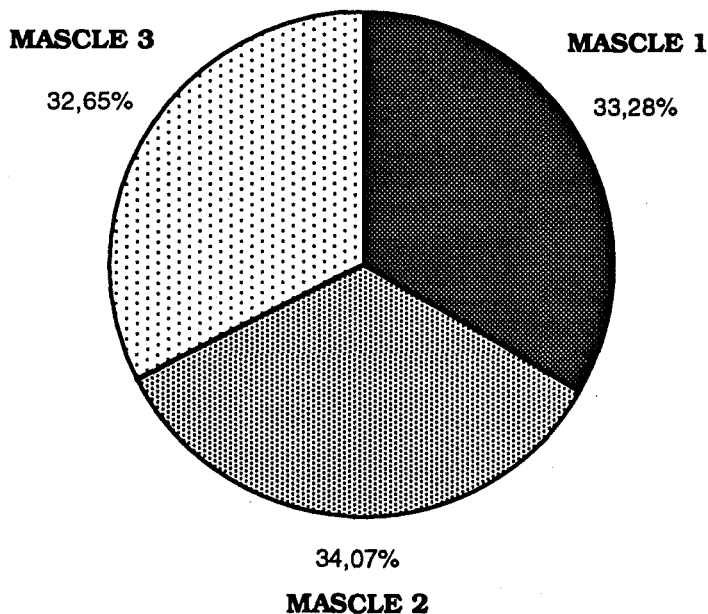
5

TAULES I GRÀFICS

TAULA I. Vitalitat dels espermatozoides epididimaris en els tres mascles
($p= 0,8941$).

Mascle	Espermatozoides vius	Espermatozoides morts	Totals
1	1289 (85,93%)	211 (14,07%)	1500
2	1284 (85,60%)	216 (14,40%)	1500
3	1293 (86,20%)	207 (13,80%)	1500
Totals	3866 (85,91%)	634 (14,09%)	4500

GRÀFIC I. Distribució dels espermatozoides morts en l'esperma epididimària dels tres mascles.



TAULA II. Vitalitat espermàtica en les tres regions epididimàries ($p= 0,0001$).

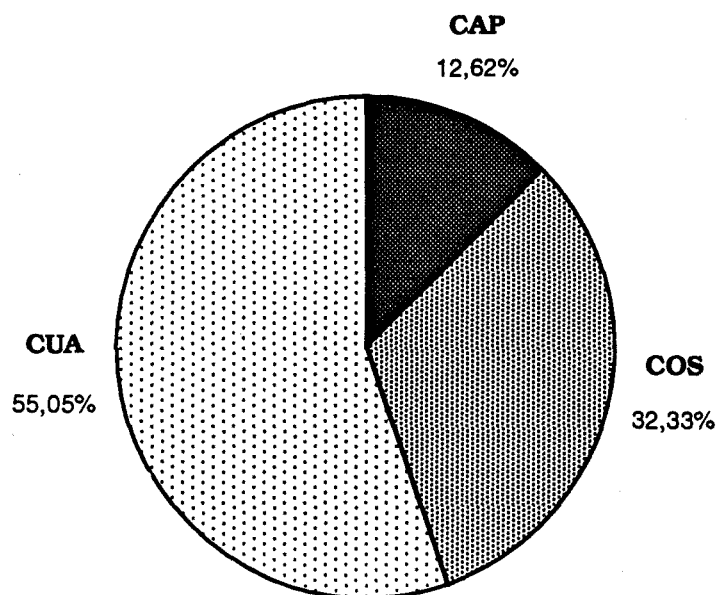
Regió	Espermatozoides vius	Espermatozoides morts	Totals
CAP	1420 (94,67%)	80 (5,33%)	1500
COS	1295 (86,33%)	205 (13,67%)	1500
CUA	1151 (76,73%)	349 (23,27%)	1500
Totals	3866 (85,91%)	634 (14,00%)	4500

CAP - COS: $p= 0,0001$

COS - CUA: $p= 0,0001$

CAP - CUA: $p= 0,0001$

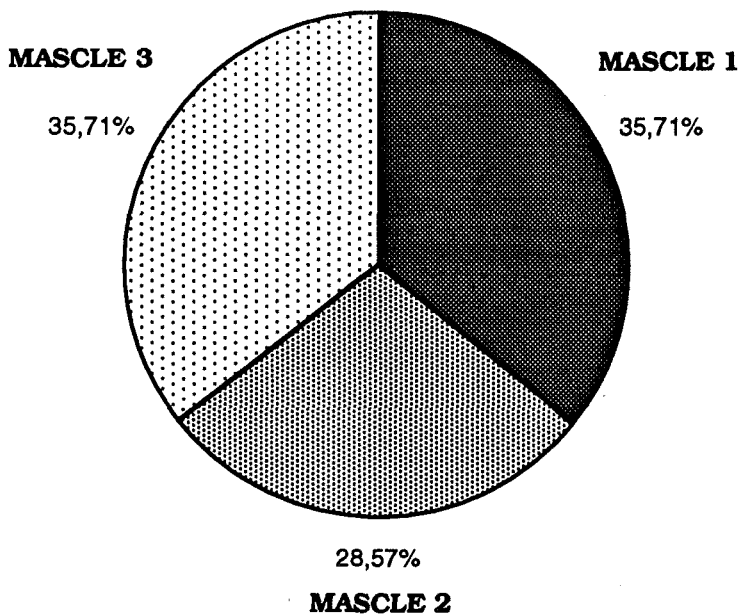
GRÀFIC II. Distribució dels espermatozoides morts en les tres regions epididimàries.



TAULA III. Resistència osmòtica dels acrosomes a 300 mOsm en els tres mascles
(p= 0,9309).

Mascle	Acrosomes resistents	Acrosomes no resistents	Totals
1	1495 (99,67%)	5 (0,33%)	1500
2	1496 (99,73%)	4 (0,27%)	1500
3	1495 (99,67%)	5 (0,33%)	1500
Totals	4486 (99,69%)	14 (0,31%)	4500

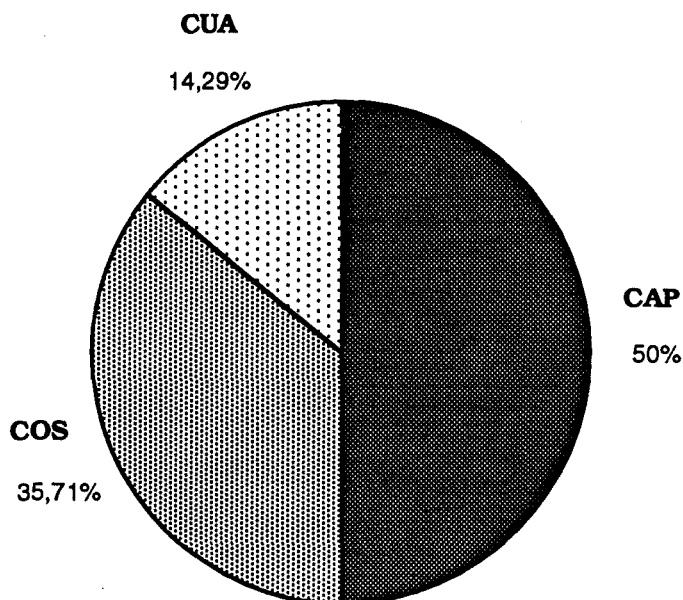
GRÀFIC III. Distribució dels espermatozoides amb acrosomes no resistents a un medi isotònic en l'esperma epididimària dels tres mascles.



TAULA IV. Resistència osmòtica dels acrosomes a 300 mOsm en les tres regions epididimàries ($p= 0,2563$).

Regió	Acrosomes resistents	Acrosomes no resistents	Totals
CAP	1493 (99,53%)	7 (0,47%)	1500
COS	1495 (99,67%)	5 (0,33%)	1500
CUA	1498 (99,87%)	2 (0,13%)	1500
Totals	4486 (99,69%)	14 (0,31%)	4500

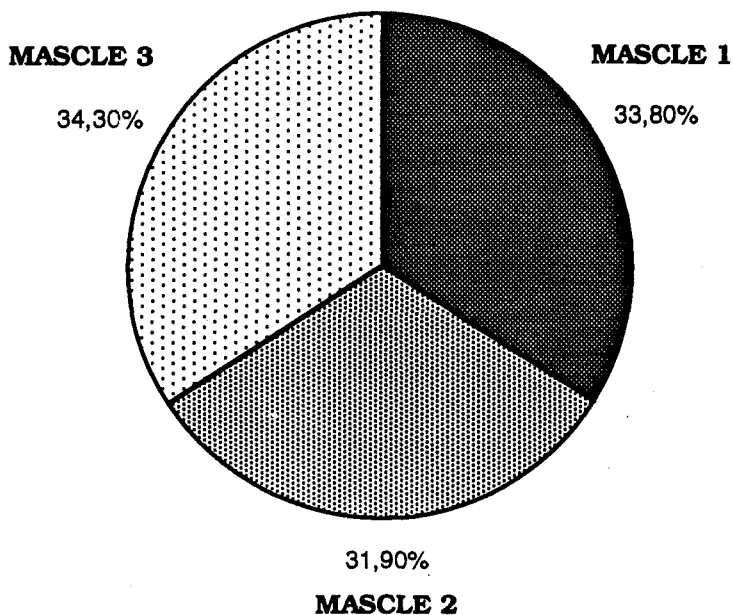
GRÀFIC IV. Distribució dels espermatozoides amb acrosomes no resistents a un medi isotònic en les tres regions epididimàries.



TAULA V. Resistència osmòtica dels acrosomes a 150 mOsm en els tres mascles
($p= 0,6308$).

Mascle	Acrosomes resistents	Acrosomes no resistents	Totals
1	1232 (82,13%)	268 (17,87%)	1500
2	1247 (83,13%)	253 (16,87%)	1500
3	1228 (81,87%)	272 (18,13%)	1500
Totals	3707 (82,38%)	793 (17,62%)	4500

GRÀFIC V. Distribució dels espermatozoides amb acrosomes no resistents a un medi hipotònic en l'esperma epididimària dels tres mascles.



TAULA VI. Resistència osmòtica dels acrosomes a 150 mOsm en les tres regions epididimàries (p= 0,0001).

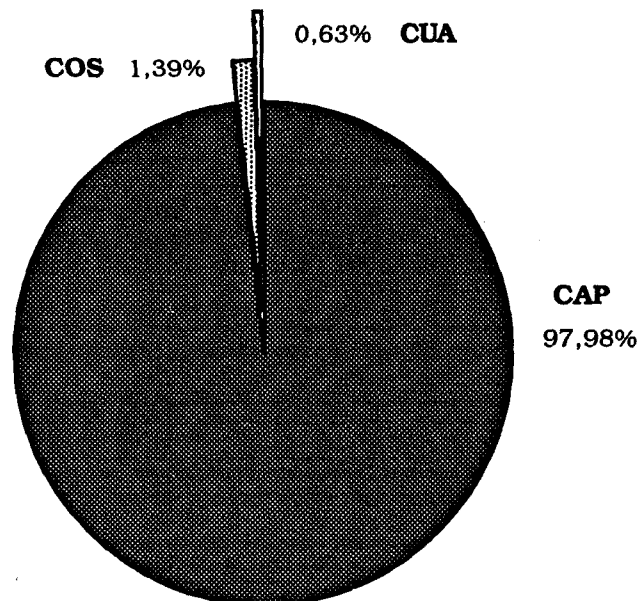
Regió	Acrosomes resistents	Acrosomes no resistents	Totals
CAP	723 (48,20%)	777 (51,80%)	1500
COS	1489 (99,27%)	11 (0,73%)	1500
CUA	1495 (99,67%)	5 (0,33%)	1500
Totals	3707 (82,38%)	793 (17,62%)	4500

CAP - COS: p= 0,0001

COS - CUA: p= 0,1326

CAP - CUA: p= 0,0001

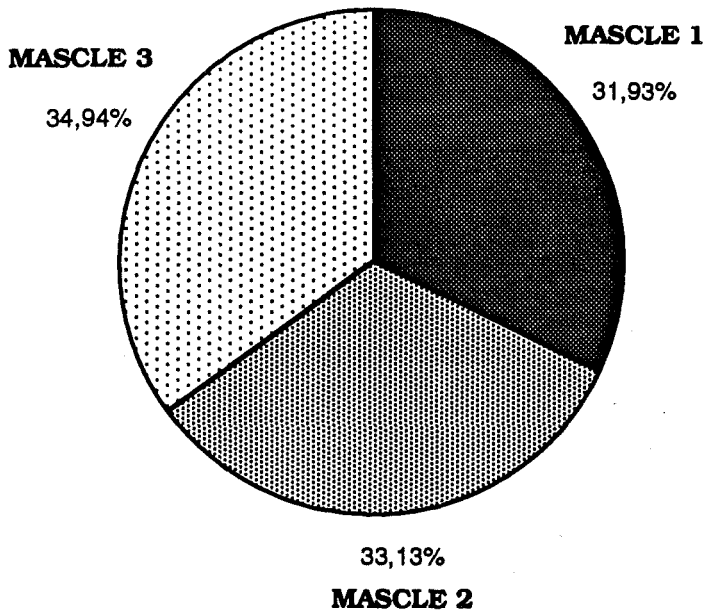
GRÀFIC VI. Distribució dels espermatozoides amb acrosomes no resistents a un medi hipotònic en les tres regions epididimàries.



TAULA VII. Estabilitat cefàlica dels espermatozoides epididimaris en els tres mascles ($p= 0,8879$).

Mascle	Espermatozoides normals	Caps isolats	Totals
1	1447 (96,47%)	53 (3,53%)	1500
2	1445 (96,33%)	55 (3,67%)	1500
3	1442 (96,13%)	58 (3,87%)	1500
Totals	4334 (96,31%)	166 (3,69%)	4500

GRÀFIC VII. Distribució dels caps isolats en l'esperma epididimària dels tres mascles.



TAULA VIII. Estabilitat cefàlica dels espermatozoides epididimaris en les tres regions epididimàries (p= 0,0001).

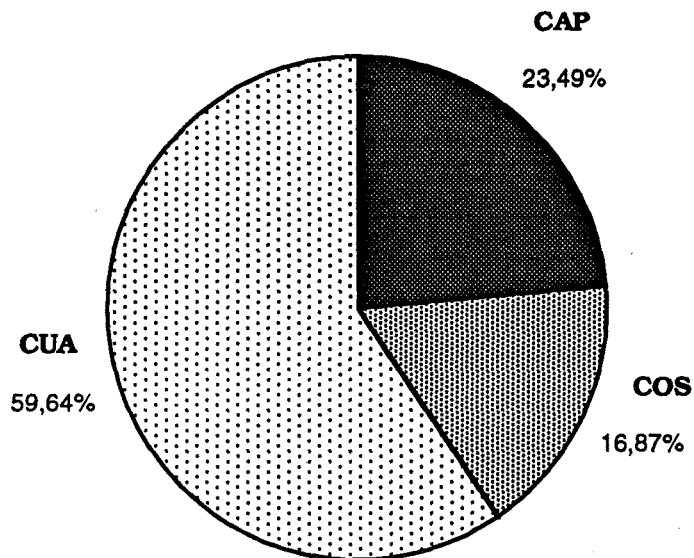
Regió	Espermatozoides normals	Caps isolats	Totals
CAP	1461 (97,40%)	39 (2,60%)	1500
COS	1472 (98,13%)	28 (1,87%)	1500
CUA	1401 (93,40%)	99 (6,60%)	1500
Totals	4334 (96,31%)	166 (3,69%)	4500

CAP - COS: p= 0,1741

COS - CUA: p= 0,0001

CAP - CUA: p= 0,0001

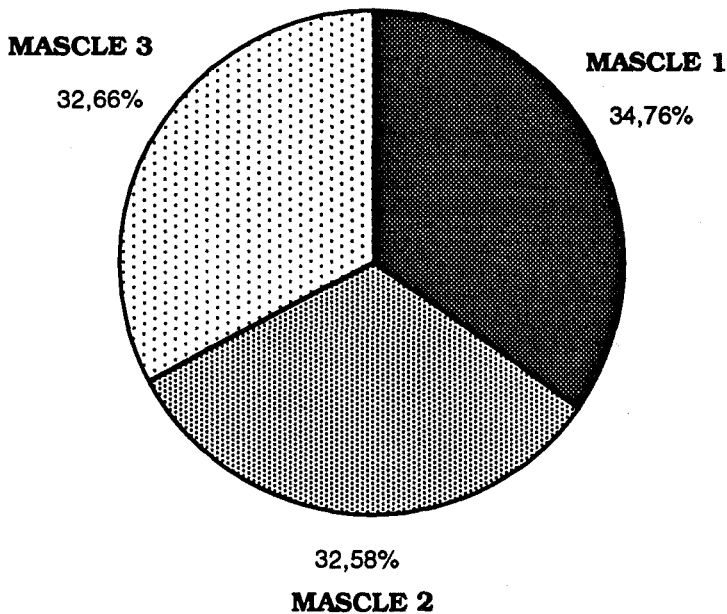
GRÀFIC VIII. Distribució dels caps isolats en les tres regions epididimàries.



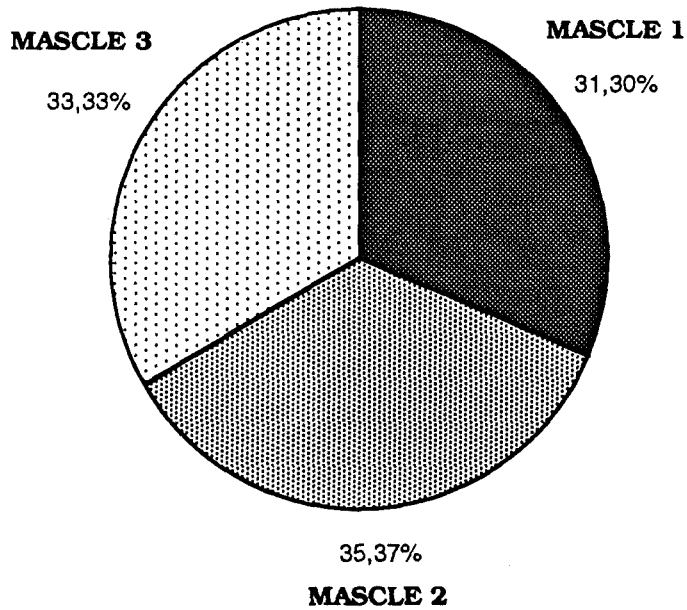
TAULA IX. Morfologia dels espermatozoides epididimaris en els tres mascles
($p= 0,2433$).

Mascle	Madurs	Immadurs amb gota proximal	Immadurs amb gota distal	Aberrants	Totals
1	923 (61,53%)	231 (15,40%)	303 (20,20%)	43 (2,87%)	1500
2	865 (57,67%)	261 (17,40%)	336 (22,40%)	38 (2,53%)	1500
3	867 (57,80%)	246 (16,40%)	348 (23,20%)	39 (2,60%)	1500
Totals	2655 (59,00%)	738 (16,40%)	987 (21,93%)	120 (2,67%)	4500

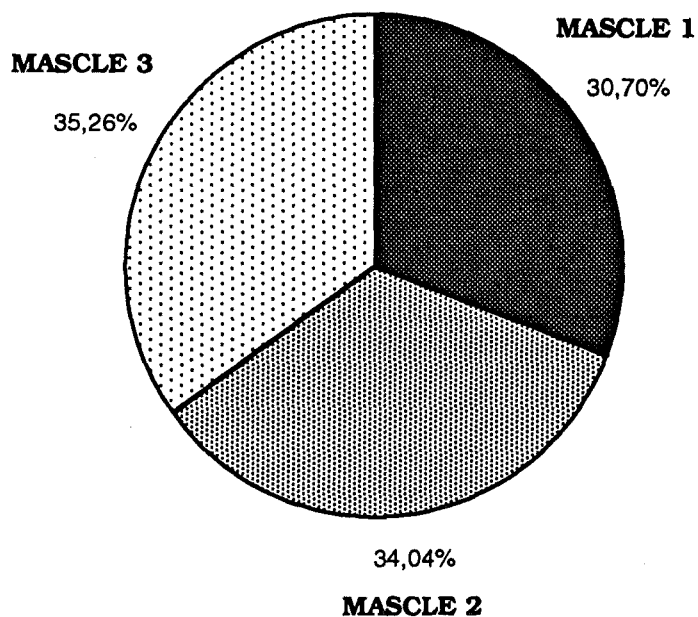
GRÀFIC IX-a. Distribució dels espermatozoides madurs en l'esperma epididimària dels tres mascles.



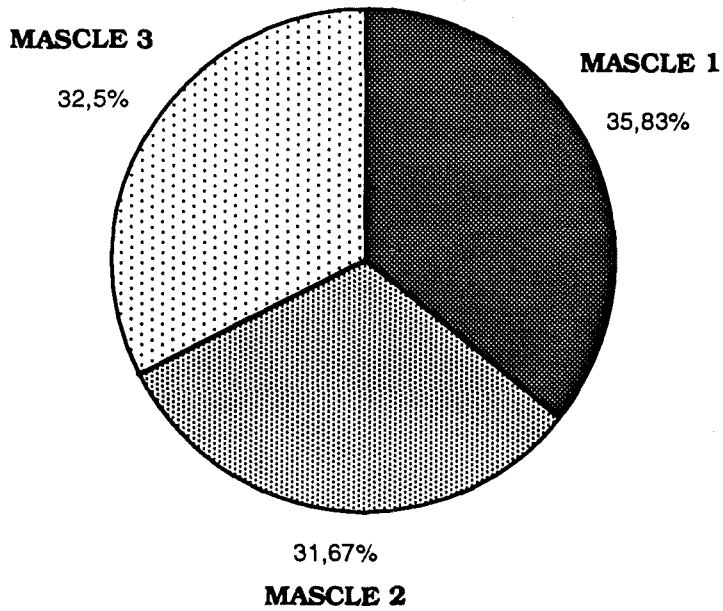
GRÀFIC IX-b. Distribució dels espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal en l'esperma epididimària dels tres mascles.



GRÀFIC IX-c. Distribució dels espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal en l'esperma epididimària dels tres mascles.



GRÀFIC IX-d. Distribució dels espermatozoides aberrants en l'esperma epididimària dels tres mascles.



TAULA X. Morfologia espermàtica en les tres regions epididimàries (p= 0,0001).

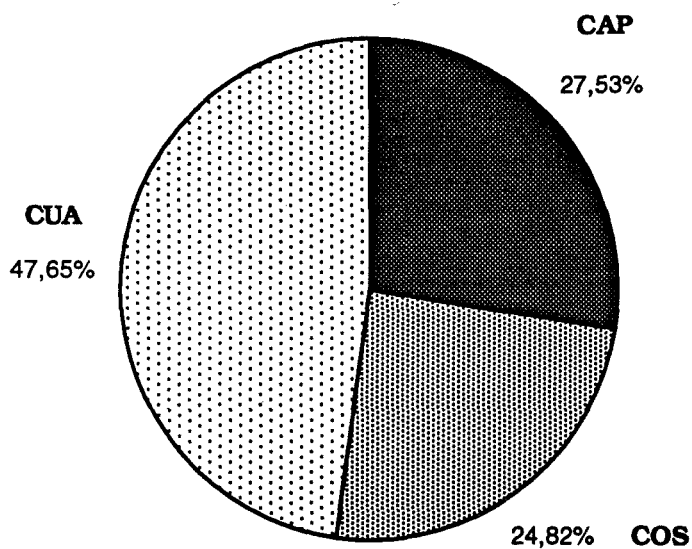
Regió	Madurs	Immadurs amb gota proximal	Immadurs amb gota distal	Aberrants	Totals
CAP	731 (48,73%)	733 (48,87%)	5 (0,33%)	31 (2,07%)	1500
COS	659 (43,93%)	5 (0,33%)	805 (53,67%)	31 (2,07%)	1500
CUA	1265 (84,33%)	0 (0,00%)	177 (11,80%)	58 (3,87%)	1500
Totals	2655 (59,00%)	738 (16,40%)	987 (21,93%)	120 (2,67%)	4500

CAP - COS: p= 0,0001

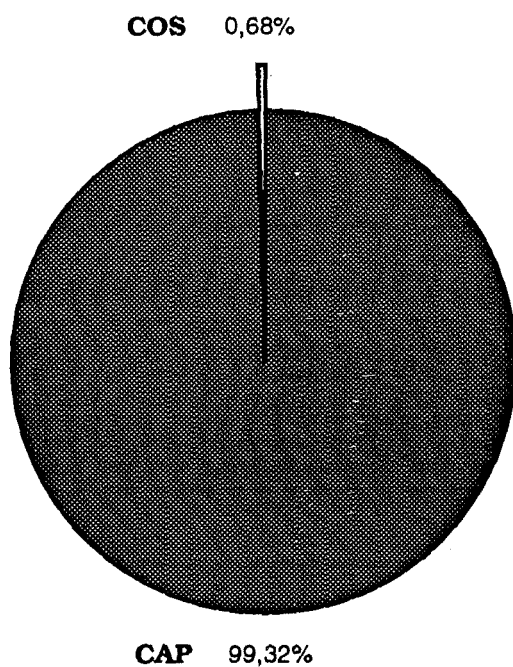
COS - CUA: p= 0,0001

CAP - CUA: p= 0,0001

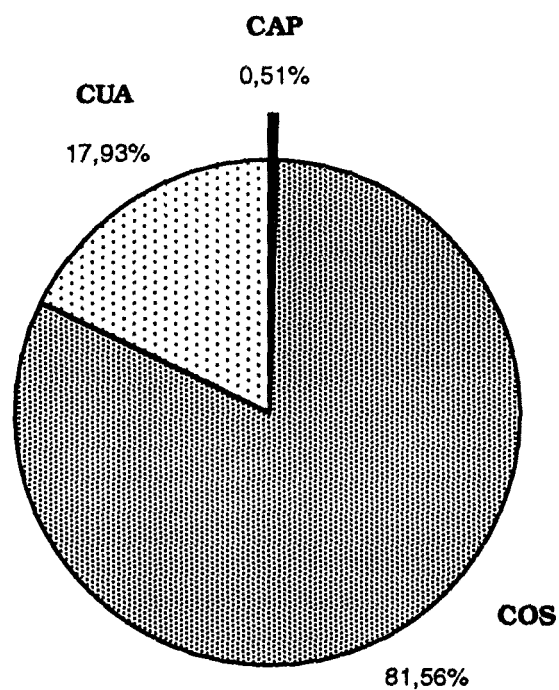
GRÀFIC X-a. Distribució dels espermatozoides madurs en les tres regions epididimàries.



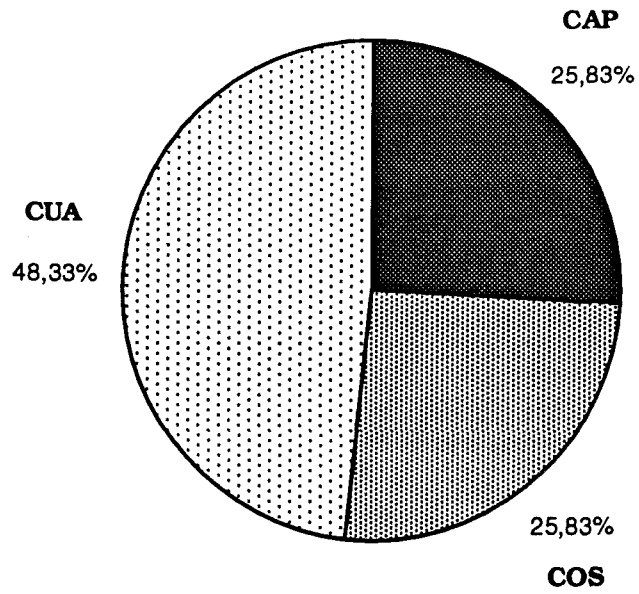
GRÀFIC X-b. Distribució dels espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal en les tres regions epididimàries.



GRÀFIC X-c. Distribució dels espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal en les tres regions epididimàries.



GRÀFIC X-d. Distribució dels espermatozoides aberrants en les tres regions epididimàries.



TAULA XI. Espermatozoides amb la cua normal i espermatozoides amb la cua doblegada per la peça de connexió en les tres regions epididimàries (p= 0,0378).

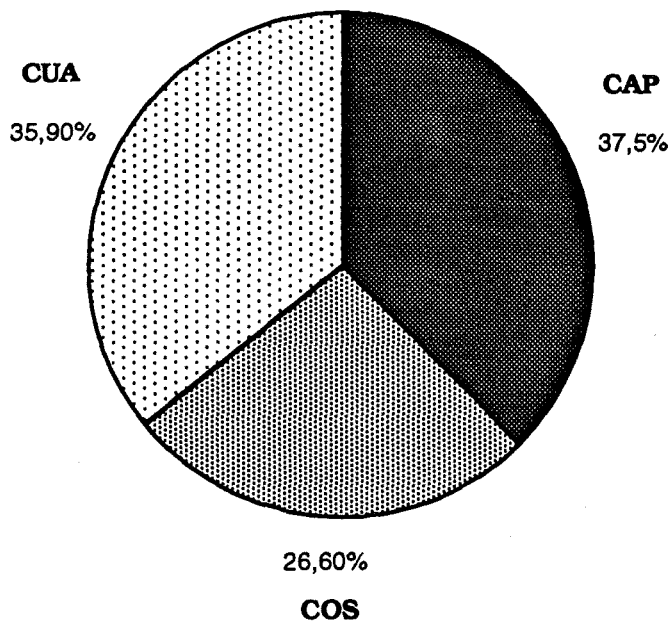
Regió	Espermatozoides amb cua normal	Espermatozoides amb cua doblegada per la p. connexió	Totals
CAP	9883 (98,83%)	117 (1,17%)	10000
COS	9917 (99,17%)	83 (0,83%)	10000
CUA	9888 (98,88%)	112 (1,12%)	10000
Totals	29688 (98,96%)	312 (1,04%)	30000

CAP - COS: p= 0,0157

COS - CUA: p= 0,0369

CAP - CUA: p= 0,7396

GRÀFIC XI. Distribució dels espermatozoides amb la cua doblegada per la peça de connexió en les tres regions epididimàries.



TAULA XII. Espermatozoides amb la cua normal i espermatozoides amb la cua doblegada per la peça intermèdia en les tres regions epididimàries (p= 0,0020).

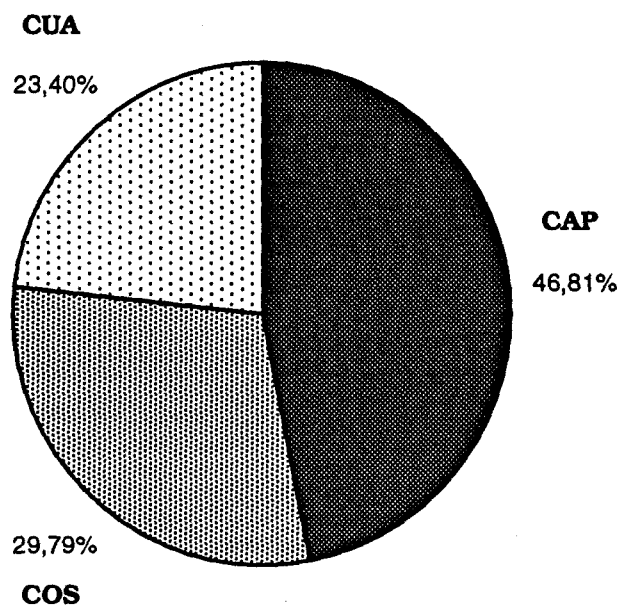
Regió	Espermatozoides amb cua normal	Espermatozoides amb cua doblegada per la p. intermèdia	Totals
CAP	9934 (99,34%)	66 (0,66%)	10000
COS	9958 (99,58%)	42 (0,42%)	10000
CUA	9967 (99,67%)	33 (0,33%)	10000
Totals	29859 (99,53%)	141 (0,47%)	30000

CAP - COS: p= 0,0206

COS - CUA: p= 0,2978

CAP - CUA: p= 0,0009

GRÀFIC XII. Distribució dels espermatozoides amb la cua doblegada per la peça intermèdia en les tres regions epididimàries.



TAULA XIII. Espermatozoides amb la cua normal i espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen en les tres regions epididimàries (p= 0,0001).

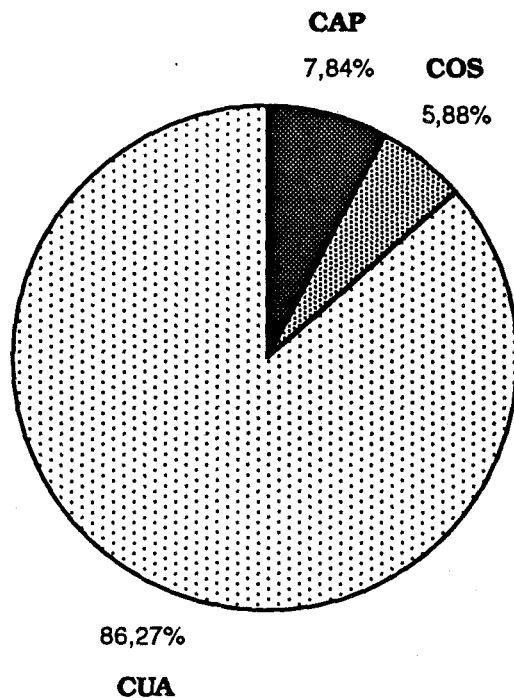
Regió	Espermatozoides amb cua normal	Espermatozoides amb cua doblegada per l'anell de Jensen	Totals
CAP	9996 (99,96%)	4 (0,04%)	10000
COS	9997 (99,97%)	3 (0,03%)	10000
CUA	9956 (99,56%)	44 (0,44%)	10000
Totals	29949 (99,83%)	51 (0,17%)	30000

CAP - COS: p= 0,7054

COS - CUA: p= 0,0001

CAP - CUA: p= 0,0001

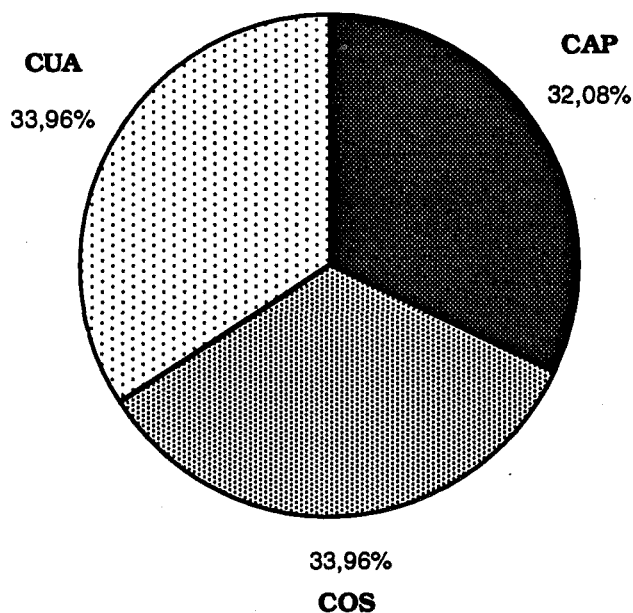
GRÀFIC XIII. Distribució dels espermatozoides amb la cua doblegada per l'anell de Jensen en les tres regions epididimàries.



TAULA XIV. Espermatozoides amb la cua normal i espermatozoides amb la cua doblegada per la peça principal en les tres regions epididimàries ($p= 0,9813$).

Regió	Espermatozoides amb cua normal	Espermatozoides amb cua doblegada per la p. principal	Totals
CAP	9983 (99,83%)	17 (0,17%)	10000
COS	9982 (99,82%)	18 (0,18%)	10000
CUA	9982 (99,82%)	18 (0,18%)	10000
Totals	29947 (99,82%)	53 (0,18%)	30000

GRÀFIC XIV. Distribució dels espermatozoides amb la cua doblegada per la peça principal en les tres regions epididimàries.



TAULA XV. Espermatozoides amb la cua normal i espermatozoides amb la cua enrotllada en les tres regions epididimàries (p= 0,0022).

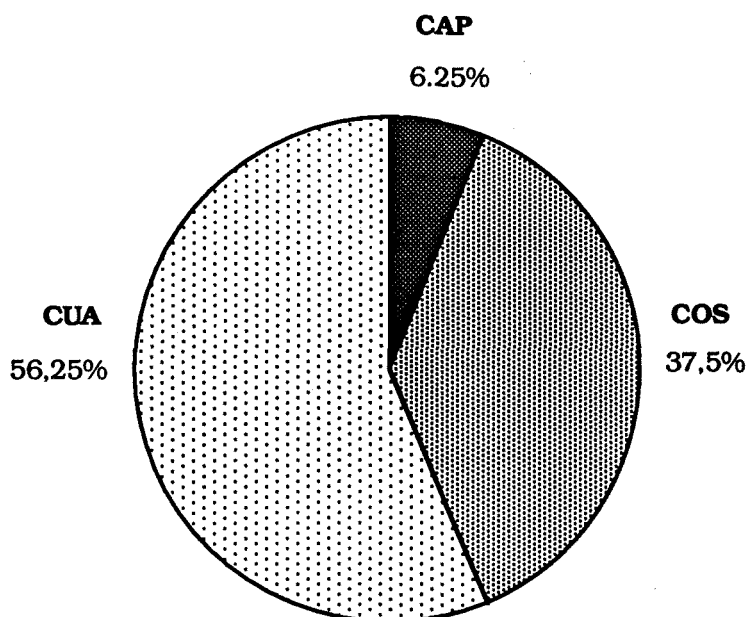
Regió	Espermatozoides amb cua normal	Espermatozoides amb cua enrotllada	Totals
CAP	9998 (99,98%)	2 (0,02%)	10000
COS	9988 (99,88%)	12 (0,12%)	10000
CUA	9982 (99,82%)	18 (0,18%)	10000
Totals	29968 (99,89%)	32 (0,11%)	30000

CAP - COS: p= 0,0075

COS - CUA: p= 0,2730

CAP - CUA: p= 0,0003

GRÀFIC XV. Distribució dels espermatozoides amb la cua enrotllada en les tres regions epididimàries.



TAULA XVI. Espermatozoides amb la cua normal i espermatozoides amb les cues fusionades en les tres regions epididimàries (p= 0,0001).

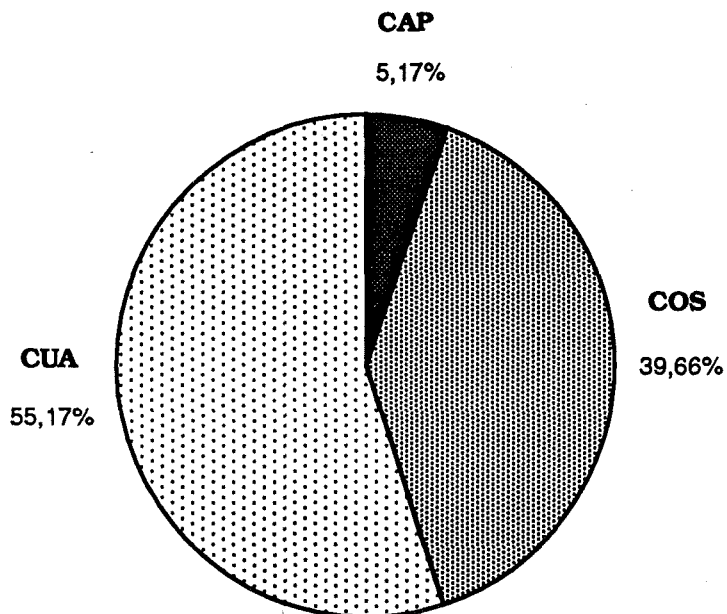
Regió	Espermatozoides amb cua normal	Espermatozoides amb dues cues fusionades	Totals
CAP	9997 (99,97%)	3 (0,03%)	10000
COS	9977 (99,77%)	23 (0,23%)	10000
CUA	9968 (99,68%)	32 (0,32%)	10000
Totals	29942 (99,81%)	58 (0,19%)	30000

CAP - COS: p= 0,0001

COS - CUA: p= 0,2243

CAP - CUA: p= 0,0001

GRÀFIC XVI. Distribució dels espermatozoides amb les cues fusionades en les tres regions epididimàries.



TAULA XVI-a. Espermatozoides amb un cap i una cua i espermatozoides amb un cap i dues cues fusionades en les tres regions epididimàries. Únicament les diferències entre les freqüències observades en les regions cefàlica i corporal de l'epididim són significatives ($p < 0,01$).

Regió	Espermatozoides amb un cap i una cua	Espermatozoides amb un cap i dues cues fusionades	Totals
CAP	9999	1	10000
COS	9984	16	10000
CUA	9981	19	10000
Totals	29964	36	30000

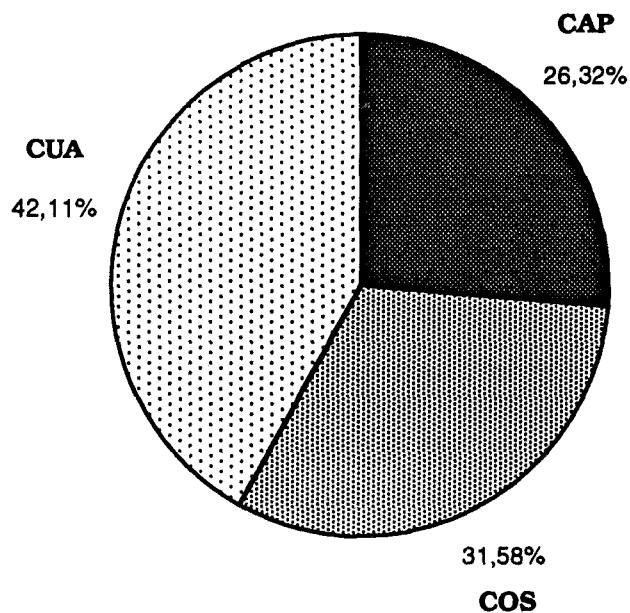
TAULA XVI-b. Espermatozoides amb un cap i una cua i espermatozoides amb dos caps i dues cues fusionades en les tres regions epididimàries. Les diferències entre les freqüències observades en les tres regions de l'epididim són significatives ($p < 0,01$).

Regió	Espermatozoides amb un cap i una cua	Espermatozoides amb dos caps i dues cues fusionades	Totals
CAP	9998	2	10000
COS	9993	7	10000
CUA	9987	13	10000
Totals	29978	22	30000

TAULA XVII. Espermatozoides amb el cap normal i espermatozoides macrocefàlics en les tres regions epididimàries (p= 0,6917).

Regió	Espermatozoides amb cap normal	Espermatozoides macrocefàlics	Totals
CAP	9995 (99,95%)	5 (0,05%)	10000
COS	9994 (99,94%)	6 (0,06%)	10000
CUA	9992 (99,92%)	8 (0,08%)	10000
Totals	29981 (99,94%)	19 (0,06%)	30000

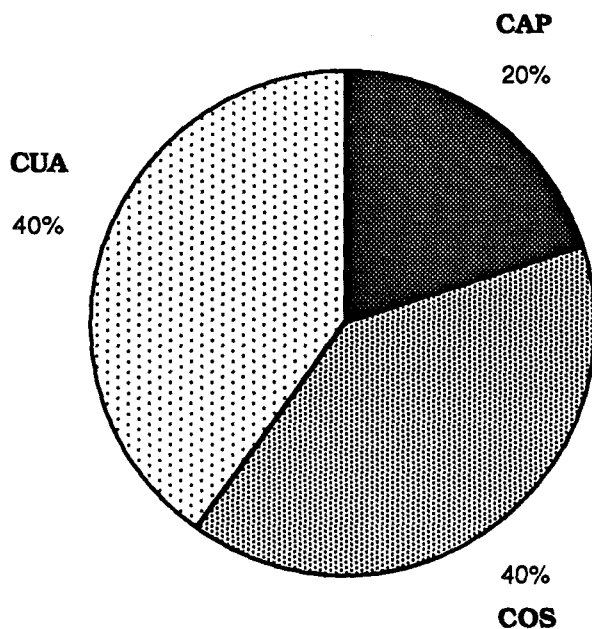
GRÀFIC XVII. Distribució dels espermatozoides macrocefàlics en les tres regions epididimàries.



TAULA XVIII. Espermatozoides amb el cap normal i espermatozoides microcefàlics en les tres regions epididimàries ($p= 0,8187$).

Regió	Espermatozoides amb cap normal	Espermatozoides microcefàlics	Totals
CAP	9999 (99,99%)	1 (0,01%)	10000
COS	9998 (99,98%)	2 (0,02%)	10000
CUA	9998 (99,98%)	2 (0,02%)	10000
Totals	29995 (99,98%)	5 (0,02%)	30000

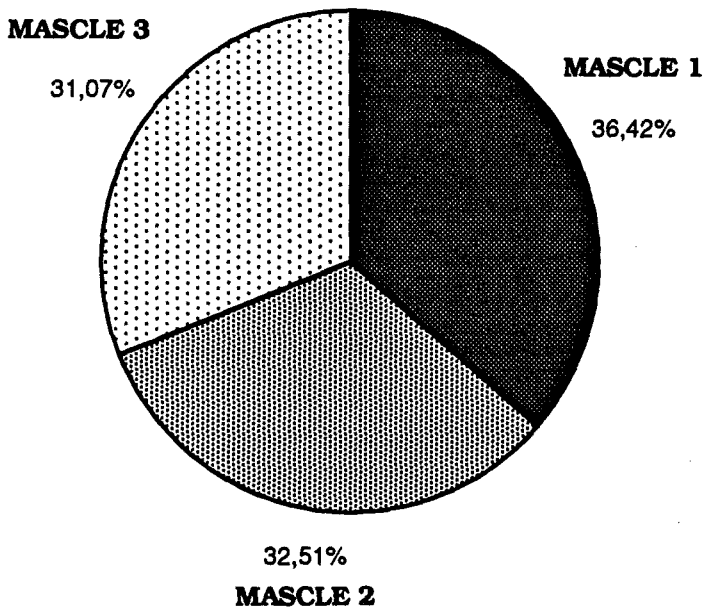
GRÀFIC XVIII. Distribució dels espermatozoides microcefàlics en les tres regions epididimàries.



TAULA XIX. Espermatozoides no aglutinats i espermatozoides aglutinats a l'epidídim dels tres mascles ($p= 0,2858$).

Mascle	Espermatozoides no aglutinats	Espermatozoides aglutinats	Totals
1	1323 (88,20%)	177 (11,80%)	1500
2	1342 (89,47%)	158 (10,53%)	1500
3	1349 (89,93%)	151 (10,07%)	1500
Totals	4014 (89,20%)	486 (10,80%)	4500

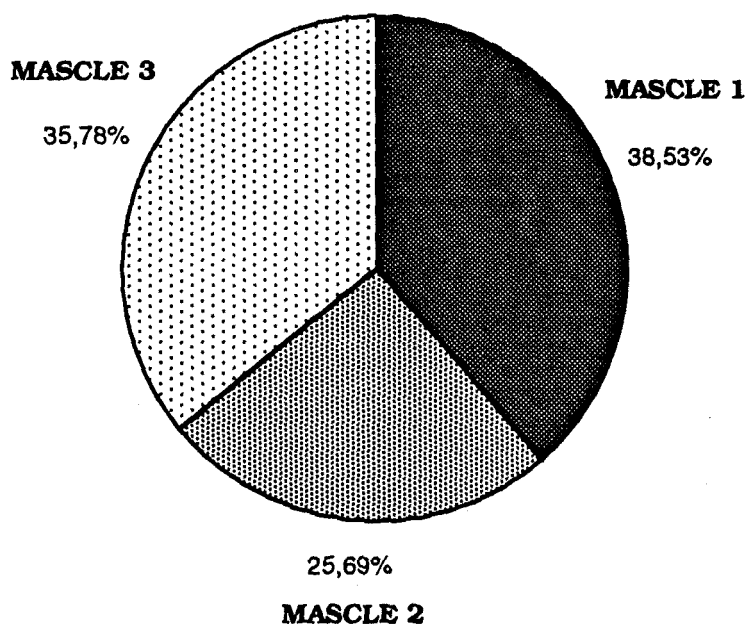
GRÀFIC XIX. Distribució dels espermatozoides aglutinats a l'epidídim dels tres mascles.



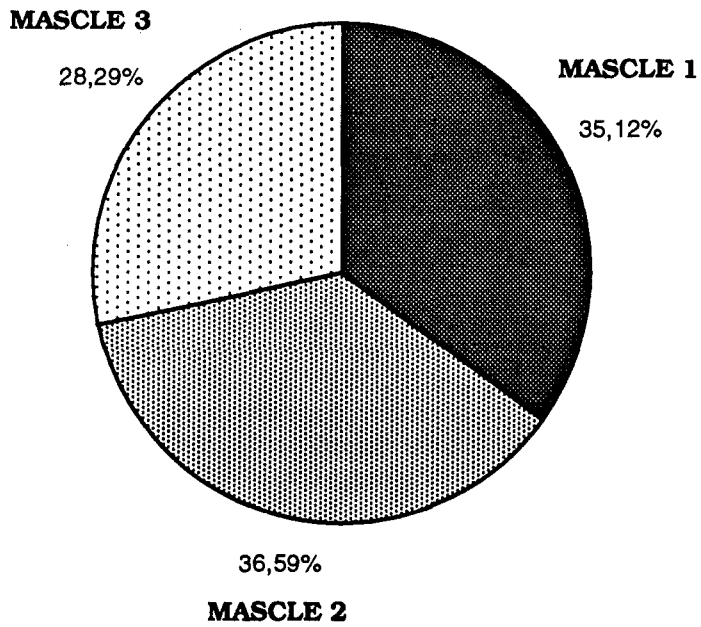
TAULA XX. Tipus d'aglutinació dels espermatozoides epididimaris en els tres mascles ($p= 0,3675$).

Mascle	no aglutinats	aglutinats cap-cap	aglutinats cua-cua	aglutinats cap-cua	Totals
1	1323 (88,25%)	42 (2,80%)	72 (4,80%)	63 (4,20%)	1500
2	1342 (89,47%)	28 (1,87%)	75 (5,00%)	55 (3,67%)	1500
3	1349 (89,93%)	39 (2,60%)	58 (3,87%)	54 (3,60%)	1500
Totals	4014 (89,20%)	109 (2,42%)	205 (4,56%)	172 (3,82%)	4500

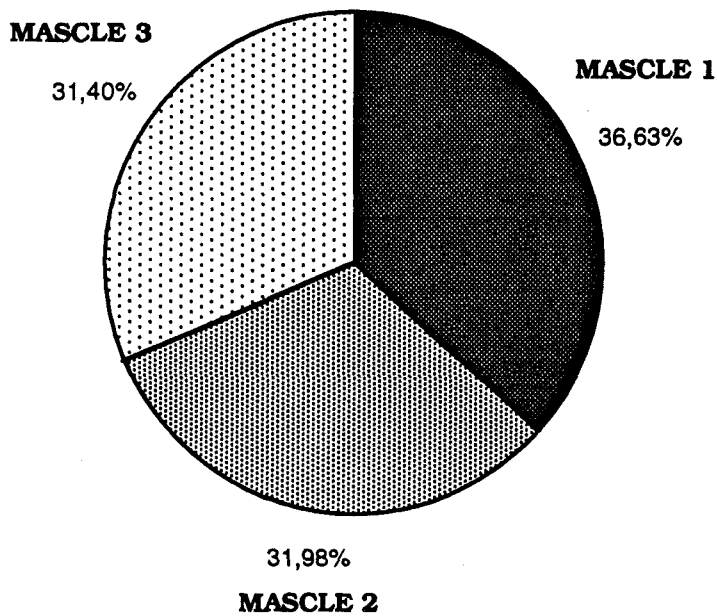
GRÀFIC XX-a. Distribució de l'aglutinació cap-cap en l'esperma epididimària dels tres mascles.



GRÀFIC XX-b. Distribució de l'aglutinació cua-cua en l'esperma epididimària dels tres mascles.



GRÀFIC XX-c. Distribució de l'aglutinació cap-cua en l'esperma epididimària dels tres mascles.



TAULA XXI. Espermatozoides aglutinats i espermatozoides no aglutinats en les tres regions epididimàries ($p= 0,0001$).

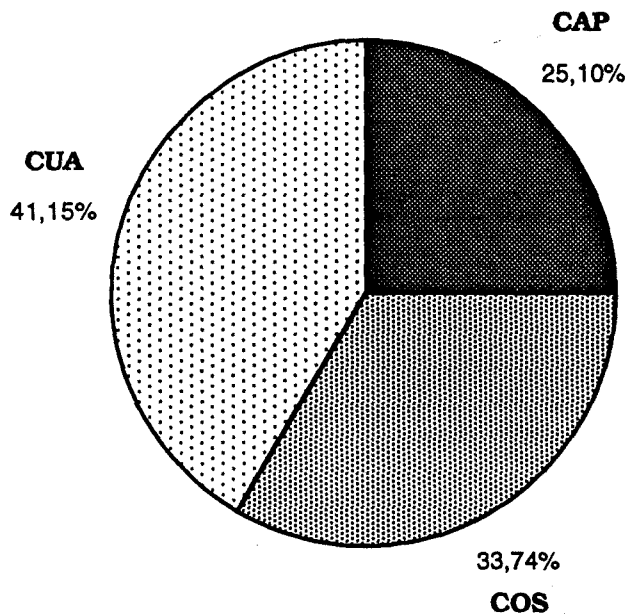
Regió	Espermatozoides no aglutinats	Espermatozoides aglutinats	Totals
CAP	1378 (91,87%)	122 (8,13%)	1500
COS	1336 (89,07%)	164 (10,93%)	1500
CUA	1300 (86,67%)	200 (13,33%)	1500
Totals	4014 (89,20%)	486 (10,80%)	30000

CAP - COS: $p= 0,0090$

COS - CUA: $p= 0,0441$

CAP - CUA: $p= 0,0001$

GRÀFIC XXI. Distribució dels espermatozoides aglutinats en les tres regions epididimàries.



TAULA XXII. Tipus d'aglutinació espermàtica en les tres regions epididimàries
($p=0,0278$).

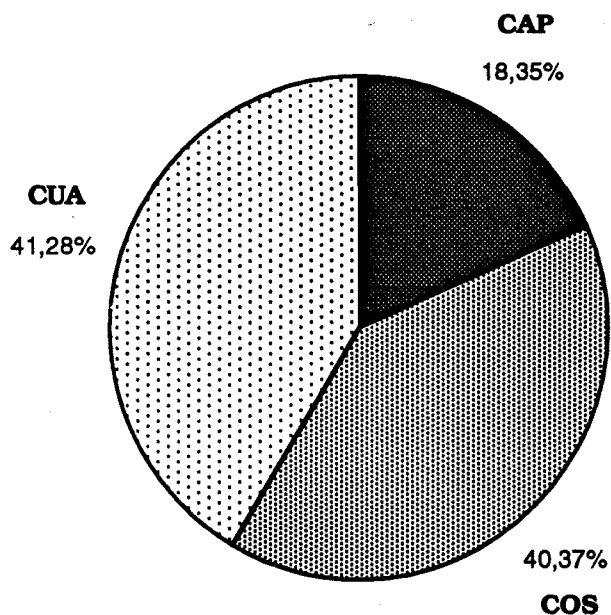
Regió	aglutinats cap-cap	aglutinats cua-cua	aglutinats cap-cua	Totals
CAP	20 (16,39%)	64 (52,46%)	38 (31,15%)	122
COS	44 (26,83%)	55 (33,54%)	65 (39,63%)	164
CUA	45 (22,50%)	86 (43,00%)	69 (34,50%)	200
Totals	109 (22,43%)	205 (42,18%)	172 (35,39%)	486

CAP - COS: $p=0,0045$

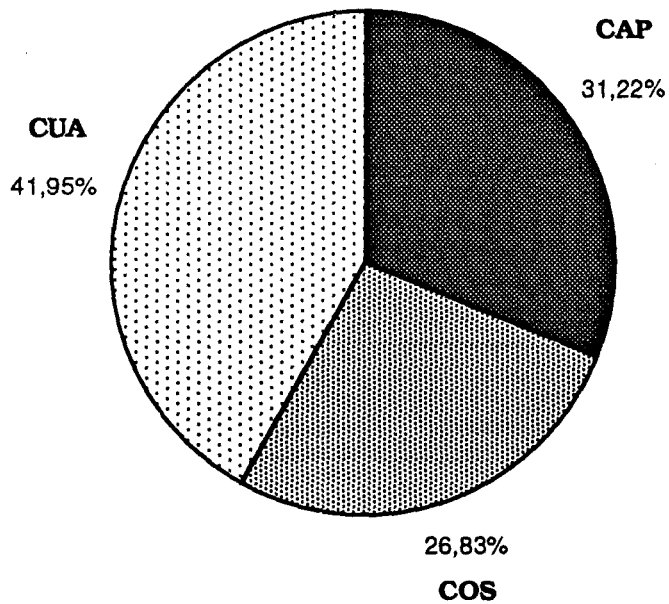
COS - CUA: $p=0,1809$

CAP - CUA: $p=0,2110$

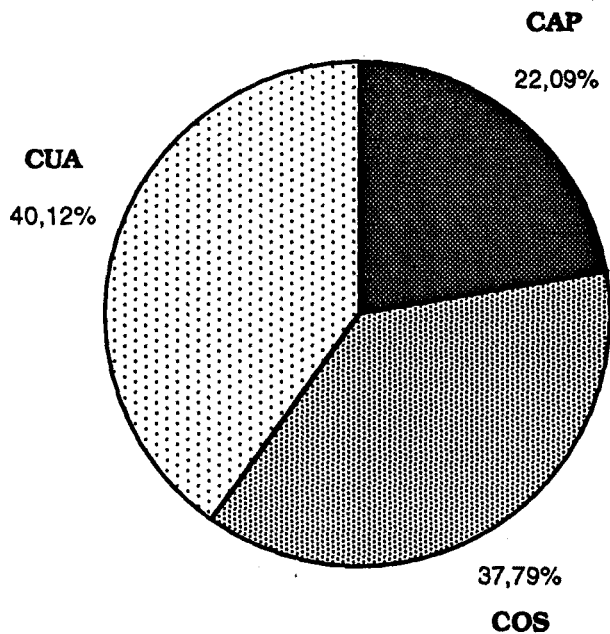
GRÀFIC XXII-a. Distribució de l'aglutinació cap-cap en les tres regions epididimàries.



GRÀFIC XXII-b. Distribució de l'aglutinació cua-cua en les tres regions epididimàries.



GRÀFIC XXII-c. Distribució de l'aglutinació cap-cua en les tres regions epididimàries.



DISCUSSIÓ.

El conducte epididimari és l'òrgan on l'esperma adquireix l'aptitud fecundant. Diversos autors posen de manifest que, si bé els espermatozoides obtinguts de la regió cefàlica de l'epidídim de mascles reproductors porcins no presenten l'aptitud fecundant, els obtinguts a partir de la regió corporal presenten un percentatge de fertilització comprès entre el 10% i el 50%, i els retirats de la regió caudal entre el 90% i el 100% (Hunter i col., 1976; Holt i Smidt, 1976; i Flickinger, 1979). Segons Jouannet (1981), Dacheux i col. (1983) i Yeung i col. (1993), la motilitat espermàtica es manifesta quan els espermatozoides abandonen l'epidídim o quan són transferits de la regió caudal de l'epidídim a una solució tampó. Els espermatozoides recollits de la regió cefàlica de l'epidídim gairebé no mostren motilitat, mentre que els que procedeixen de la cua epididimària arriben a descriure un lleuger moviment circular. La reducció de l'acrosoma, l'augment del contingut acrosòmic i el descens de la gota citoplasmàtica a través de la peça intermèdia al llarg del recorregut dels espermatozoides pel conducte epididimari, han estat observats en rosegadors i en l'home (Fornes i De Rosas, 1989). La modificació morfològica de l'acrosoma (mida, forma i electrodensitat del contingut acrosòmic) al llarg del procés de maduració epididimària ha estat descrita per diversos autors en diferents espècies (Cortadellas, 1991).

Un dels fets més característics i coneguts de la maduració epididimària és la migració de la gota citoplasmàtica des de la posició proximal a la distal de la peça intermèdia dels espermatozoides (Hancock, 1956). Segons Barth i Oko (1989), la migració de la gota citoplasmàtica es produeix en un segon. Una vegada la gota citoplasmàtica pren la posició distal, es produeix la seva expulsió al mateix temps que la cua es doblega lleugerament per l'anell de Jensen i pel pla que divideix les fibres denses 5 i 6. A la regió cefàlica de l'epidídim de *Sus domesticus*, el 99% dels espermatozoides immadurs presenten la gota citoplasmàtica proximal i només l'1% presenten la gota citoplasmàtica distal. A la regió corporal de l'epidídim els percentatges s'inverteixen, el 99% dels espermatozoides immadurs presenten gota citoplasmàtica distal i l'1% la presenten proximal. Aquestes dades coincideixen bastant amb les que Cortadellas (1991) descriu per a *Mesocricetus auratus* i amb les que altres autors donen per a altres espècies. Si bé Cortadellas (1991) observa que el percentatge d'espermatozoides immadurs es manté constant al llarg del conducte epididimari, oscil·lant entre el 92% i el 94%, en els mascles reproductors porcins i en altres espècies, el percentatge d'espermatozoides immadurs disminueix al llarg del

conduïte epididimari (Suzuki i Nagaro, 1980; Kaplan i col., 1984). En la memòria s'afirma que el percentatge d'espermatozoides immadurs passa del 49,2% a la regió cefàlica a l'11,8% a la regió caudal. Les posicions centrada i descentrada de la gota citoplasmàtica respecte a l'eix de la peça intermèdia han estat descrites per diversos autors en diferents espècies. Temple-Smith (1984) observa que la gota citoplasmàtica pren una posició centrada quan ocupa la regió del coll de l'espermatozoide i, a mesura que avança per la peça intermèdia, va prenent posicions més descentrades. En el cas de *Mesocricetus auratus* (Cortadellas, 1991), els espermatozoides immadurs de la regió cefàlica de l'epidídim presenten la gota citoplasmàtica proximal excèntrica i els de les regions corporal i caudal de l'epidídim presenten la gota citoplasmàtica distal centrada respecte a la peça intermèdia.

La gota citoplasmàtica experimenta algunes modificacions estructurals durant la maduració epididimària. Si bé a la regió cefàlica de l'epidídim la gota citoplasmàtica presenta un citoplasma amorf ric en cisternes membranoses llises derivades del Complex de Golgi (Mollenhauer i Morré, 1983), a la regió caudal de l'epidídim apareixen vesícules limitades per una única membrana o per doble membrana i disposades a la perifèria del citoplasma (Kaplan i col., 1984). Segons Cortadellas (1991) les vesícules presents a la gota citoplasmàtica contenen fosfatasa àcida. Roberts i col. (1976) observen que les vesícules limitades per doble membrana es fusionen amb el plasmalema de la gota citoplasmàtica, i, les vesícules riques en enzims hidrolítics limitades per una membrana s'alliberen a la llum del conduïte epididimari. Tamblyn (1981) demostra la presència d'actina a la gota citoplasmàtica dels espermatozoides ejaculats de *Sus domesticus* i apunta la seva possible col.laboració en la migració de la gota.

Segons Barth i Oko (1989) el percentatge d'espermatozoides amb caps isolats a l'ejaculat de toro és, normalment, del $5,1 \pm 0,74\%$ i les causes principals d'un augment d'aquest percentatge solen ser atribuïdes a una hipoplàsia testicular o a la inflamació de les vesícules seminals o dels conduïtes epididimaris. En condicions no patològiques, el percentatge de caps isolats a l'ejaculat està en relació directa amb el temps que els espermatozoides romanen a la cua epididimària (Barth i Oko, 1989). Aquest fet explicaria que, si bé a les dues primeres regions de l'epidídim de *Sus domesticus* el percentatge d'espermatozoides amb el cap isolat es manté a l'entorn del 2%, aquest augmenta significativament fins al 6,5% a la regió caudal de l'epidídim.

La resistència osmòtica dels acrosomes depèn de la pressió osmòtica del fluid epididimari i de la permeabilitat de la membrana plasmàtica a cada regió de l'epidídim (Takanashi i col., 1990). La pressió osmòtica del fluid epididimari és més elevada a la regió cefàlica que a la regió caudal. En hámsters, per exemple, la pressió osmòtica del fluid epididimari a la regió

cefàlica és de 417 mOsm, a la regió corporal és de 408 mOsm i a la regió caudal és de 385 mOsm (Johnson i Howards, 1976). La permeabilitat de la membrana plasmàtica de l'espermatozoide a l'eosina és, també, més elevada a la regió cefàlica que a la regió caudal (Ortovant, 1953). L'elevada pressió osmòtica del fluid epididimari a la regió cefàlica de l'epidídim, juntament amb l'elevada permeabilitat de la membrana dels espermatozoides procedents d'aquesta regió epididimària, expliquen la baixa resistència osmòtica de les vesícules acrosòmiques dels espermatozoides de la regió cefàlica de l'epidídim quan són sotmesos a medis hipotònics (150mOsm). Shilling i Vengust (1987) demostren que, en sotmetre un mascle reproductor porcí a un ritme d'extraccions de semen elevat (cada dos dies durant un mes), el volum de l'ejaculat es redueix, la motilitat espermàtica baixa i la resistència osmòtica dels acrosomes disminueix considerablement; és a dir, l'esperma ejaculada pren característiques específiques de l'esperma de la regió cefàlica de l'epidídim. La major separació observada entre la membrana plasmàtica i la vesícula acrosòmica en els espermatozoides procedents de la regió cefàlica ja va ser descrita per Jones (1971) en estudiar els espermatozoides procedents de la regió cefàlica de l'epidídim de mascles reproductors porcins. Segons els estudis de Suzuki i Nagaro (1980), a la regió cefàlica de l'epidídim dels rosegadors, l'espai que separa la membrana plasmàtica de la vesícula acrosòmica està ocupat per un material floculent que va desapareixent a mesura que l'espermatozoide avança pel conducte epididimari.

Tradicionalment, les malformacions espermàtiques observades a l'ejaculat s'han dividit en dos grans grups: les malformacions primàries, si presenten origen testicular, i les malformacions secundàries, si presenten origen epididimari. Jones (1971) estableix en un 1% el percentatge d'espermatozoides aberrants procedents de la cua epididimària de *Sus domesticus*. De les malformacions de l'esperma epididimària descrites a la memòria, han resultat ser secundàries les següents: cua doblegada per la peça intermèdia, cua doblegada per l'anell de Jensen, cua enrotllada i cues fusionades.

El doblegament de la cua per la peça intermèdia depèn de la capacitat de deformació d'aquesta peça i, en conseqüència, de la capacitat de deformació de les estructures que conté. La peça intermèdia conté dues estructures a les quals hom pot atribuir, entre d'altres, funcions citoesquelètiques: la beina mitocondrial i les fibres denses. En l'espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica proximal (procedent de la regió cefàlica de l'epidídim), les mitocòndries presenten una mida i una disposició irregulars. En l'espermatozoide immadur amb gota citoplasmàtica distal (procedent de la regió caudal de l'epidídim), les mitocòndries homogeneïtzen la seva mida i es disposen ordenadament descrivint una hèlice. Hellmen i col. (1980) han assenyalat que, al llarg del procés de maduració epididimària, les mitocòndries de la beina se cimenten gràcies a la presència

d'una substància que les manté unides entre si. Així doncs, al llarg del recorregut epididimari dels espermatozoides des de la regió cefàlica fins a la regió caudal de l'epidídim, les mitocondries de la peça intermèdia tendeixen a ordenar-se i a unir-se entre si constituint una vertadera beina, la beina mitocondrial. La formació d'aquesta beina va associada a la pèrdua de flexibilitat de la cua per la peça intermèdia. Això pot ser una explicació de la progressiva disminució del percentatge de la malformació "cua doblegada per la peça intermèdia" al llarg del conducte epididimari. D'altra banda, les fibres denses contenen entre un 3% i un 10% de cisteïnes que estableixen ponts disulfur al llarg del procés de maduració epididimària (Guraya, 1987). La progressiva formació de ponts disulfur augmenta la rigidesa de les fibres denses i, en conseqüència, determina una progressiva pèrdua de flexibilitat de la cua per la peça intermèdia.

Blom i Wolstrup (1976) en toros i Elliasson i Lindholm (1974) en humans, suggereixen que la presència d'espermatozoides amb la cua doblegada o amb la cua enrotllada està estretament relacionada amb la debilitat de les fibres denses provocada per un excés de zenc en el fluid epididimari. Bowen i col. (1973) descriuen la presència de zenc en el fluid epididimari de *Sus domesticus* i Calvin i col. (1975) demostren que el zenc s'incorpora a les fibres denses i que un excés d'aquest pot conduir a la debilitació d'aquestes fibres i, en conseqüència, al doblegament o a l'enrotllament de la cua. L'elevada secreció de zenc per l'epiteli epididimari caudal s'ha relacionat amb el tractament amb estrògens (Cooper, 1986). Calvin i col. (1973) sostenen que l'excés de zenc impedeix la formació de ponts disulfur entre les cisteïnes de les fibres denses i, en conseqüència, provoca una debilitació d'aquestes fibres.

Una altra hipòtesi que explica el doblegament de la cua, com a malformació d'origen epididimari, és la defensada per Koefoed-Johnsen i Pedersen (1971), que sostenen que la cua es doblega com a conseqüència d'una debilitació de les fibres denses provocada per una digestió enzimàtica. La gota citoplasmàtica, retinguda a la zona distal de la peça intermèdia, en lloc de ser expulsada, lliura els enzims hidrolítics que conté a l'exterior de les vesícules cap al citoplasma i es produeix la digestió de les fibres denses. La digestió de les fibres denses provoca, en aquesta regió distal de la peça intermèdia, una debilitació de la seva estructura i una major facilitat de doblegament. El doblegament de la cua acabarà cimentat per la pròpia gota citoplasmàtica. El fet que al cos i a la cua epididimaris el percentatge d'espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal sigui més alt explicaria que també sigui en aquestes dues regions on apareix de forma significativa la malformació "cua doblegada per l'anell de Jensen".

La hipoosmolaritat del medi també ha estat descrita (Barth i Oko, 1989) com una causa freqüent que afavoreix la presència d'espermatozoides amb la cua doblegada o amb la cua

enrotllada. Cal assenyalar que la osmolaritat del fluid epididimari va disminuint des de la regió cefàlica fins a la regió caudal, i és, per tant, a la cua epididimària on l'osmolaritat, que és més baixa, afavoreix el desenvolupament d'espermatozoides amb la cua doblegada o amb la cua enrotllada.

La fusió de les dues cues dels espermatozoides amb un cap i dues cues, o dels espermatozoides amb dos caps i dues cues està molt relacionada amb la capacitat que presenten els espermatozoides d'aglutinar-se. Els espermatozoides amb un cap i dues cues s'han originat durant l'espermioogènesi i arriben a la regió cefàlica de l'epididim amb les dues cues separades. Els espermatozoides amb dos caps i dues cues s'originen al conducte epididimari per aglutinació prèvia dels caps o de les cues. En ambdós tipus d'espermatozoides la fusió de les dues cues es fa al llarg del conducte epididimari. Els espermatozoides tendeixen a aglutinar-se espontàniament, tant en individus estèrils com en individus fèrtils (Spark, 1988). L'aglutinació espermàtica pot afavorir-se quan l'esperma es posa en contacte amb bacteris, fongs i esteroides. Si l'esperma és exposat a sèrum femení enriquit amb progesterona, s'observa un augment notable de les aglutinacions espermàtiques cap-cap. En canvi, si l'esperma és exposat a sèrum masculí enriquit amb testosterona, les aglutinacions espermàtiques produïdes són del tipus cua-cua (Spark, 1988; Taymor, 1990). El cortisol provoca un augment de l'aglutinació espermàtica cua-cua i de l'aglutinació cap-cua (Cheng i col., 1980). La concentració d'esteroides en el fluid epididimari disminueix al llarg del conducte de l'epididim (Ganjam i col., 1980). La presència de testosterona en el fluid epididimari ha estat descrita per Pujol i col. (1976). Aafjes i Vreeburg (1972) assenyalen que la concentració de 5α -dihidrotestosterona va disminuint, progressivament, al llarg del conducte epididimari dels mascles reproductors porcins. Aquestes dades són diferents de les aportades per Boulanger i col. (1982), en cànids, o per Leinonen i col. (1980), en humans. D'acord amb Boulanger i col. (1982) la concentració més elevada de testosterona es troba a la regió corporal de l'epididim i, segons Leinonen i col. (1980) en l'epididim humà no és possible observar diferències en la concentració de testosterona entre les seves tres regions. El fet que no s'observin diferències significatives en les freqüències de les aglutinacions cua-cua al llarg del conducte epididimari de *Sus domesticus* pot estar relacionat amb el fet que tampoc no es distingeixin nivells de testosterona diferents en les tres regions de l'epididim.

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS.

• De la morfologia de l'esperma ejaculada.

1. L'espermatozoide madur és un gàmeta en què distingim els elements característics dels espermatozoides dels mamífers i en què destaquen els trets següents:
 - 1.1. El cap és pla.
 - 1.2. L'acrosoma desenvolupa una protuberància apical que es disposa en una cara del cap.
 - 1.3. La peça de connexió es caracteritza pel desenvolupament dels cossos laminars.
2. L'espermatozoide immadur destaca per la presència de la gota citoplasmàtica, pel major desenvolupament de la protuberància acrosòmica apical i per la flexibilitat del cap.
3. Els espermatozoides aberrants poden ser descrits i classificats a partir de la morfologia externa o de la morfologia interna.
 - 3.1. Les malformacions externes estudiades afecten la mida o la forma del cap, la longitud de la cua, la trajectòria de la cua, el nombre de cues, el nombre de caps, l'aglutinació espermàtica i l'estabilitat del cap o de la cua.
 - 3.2. Les malformacions internes estudiades afecten el doblegament de la cua, la fusió de les cues, l'enrotllament de la cua, l'estructura axonemàtica, la beina mitocondrial, la vesiculització perifèrica o axonemàtica de la cua, el citoplasma residual i les estructures cefàliques.
4. Les cèl·lules somàtiques presents a l'ejaculat presenten les característiques pròpies d'un macròfag i se les ha observat englobant espermatozoides immadurs.

• De l'estructura i la ultraestructura del conducte epididimari.

1. L'epiteli epididimari és pseudoestratificat amb esterocilis.
2. Cada regió epididimària presenta uns valors característics pel que fa al diàmetre intern del conducte epididimari, a l'alçada de l'epiteli, a la longitud dels esterocilis i al nombre de cèl.lules somàtiques luminals.
3. L'epiteli epididimari està format per cinc tipus cel.lulars: les cèl.lules principals, les cèl.lules basals, les cèl.lules clares, les cèl.lules estretes i les cèl.lules basòfiles.
 - 3.1. Els cinc tipus cel.lulars es distribueixen al llarg de tot el conducte epididimari de forma no homogènia.
 - 3.2. Les cèl.lules basals, principals, clares i estretes són diversos estadis del desenvolupament d'un mateix tipus cel.lular especialitzat en la secreció i reabsorció cel.lular.
 - 3.3. Les cèl.lules basòfiles són les precursoras de les cèl.lules somàtiques luminals.

• De la qualitat de l'esperma epididimària.

1. La vitalitat de l'esperma disminueix progressivament al llarg del conducte epididimari.
2. La resistència osmòtica dels acrosomes s'assoleix en la regió corporal de l'epidídim.
3. L'estabilitat cefàlica dels espermatozoides és més elevada en les dues primeres regions de l'epidídim que en la regió caudal.
4. Cada regió de l'epidídim es caracteritza per una morfologia espermàtica específica:
 - 4.1. La regió cefàlica de l'epidídim es caracteritza per l'elevat percentatge d'espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica proximal.
 - 4.2. La regió corporal de l'epidídim es caracteritza per l'elevat percentatge d'espermatozoides immadurs amb gota citoplasmàtica distal.
 - 4.3. La regió caudal de l'epidídim es caracteritza per l'elevat percentatge d'espermatozoides madurs.

5. Les malformacions espermàtiques estudiades d'origen epididimari són: cua doblegada per l'anell de Jensen (originada en la regió caudal), cua enrotllada i cues fusionades (originades en la regió corporal).
6. Els espermatozoides perden capacitat per doblegar la cua per la peça intermèdia a mesura que avancen pel conducte epididimari.
7. L'aglutinació espermàtica tendeix a augmentar progressivament al llarg del conducte epididimari malgrat que no s'observen variacions significatives en els diversos tipus d'aglutinació.

BIBLIOGRAFIA

- AAFJES, J.H. i VREEBURG, J.T.M. (1972). Distribution of 5 α -dihydrotestosterone in the epididymis of bull and boar, and its concentration in rat epididymis after ligation of efferent testicular ducts, castration and unilateral gonadectomy. *J. Endocr.*, 53: 85-93.
- AAMDAL, J. (1959). Artificial insemination of pigs in Norway. *Ann. Zootech.*, (suppl.): 7-13.
- ABE, K.; TAKANO, H. i ITO, T. (1983). Ultrastructure of the mouse epididymal duct with special reference to the regional differences of the principal cells. *Arch. Histol. Jpn.*, 46: 51-68.
- ABOU-HAILA, A. i FAIN-MAUREL, M.A. (1984). Regional differences of the proximal part of mouse epididymis: Morphological and histochemical characterization. *Anat. Rec.*, 209: 197-208.
- AFZELIUS, B.A. (1974). *The Functional Anatomy of the Spermatozoa*. Pergamon Press, Oxford.
- AITKEN, R.J.; BEST, F.S.M.; RICHARDSON, D.W.; DJAHANBAKHCH, O.; MORTIMER, D.; TEMPLETON, A.A. i LEES, M.M. (1982). An analysis of sperm function in cases of unexplained infertility: conventional criteria, movement characteristics and fertilizing capacity. *Fertil. Steril.*, 38: 212-221.
- ALNOT, M.O. (1990). Les méthodes d'étude de la fécondance du sperme. *Ann. Biol. Cln.*, 48: 617-622.
- ÁLVAREZ, E.G. (1989). *Andrología: Teoría y Práctica*. Ed. Diaz de Santos S.A. Madrid.
- AMANN, R.P. (1981). A critical review for evaluation of spermatogenesis from seminal characteristics. *J. Androl.*, 2: 37-58.
- AMANN, R.P. (1988). Relationships between computerized evaluations of spermatozoal motion and competitive fertility index. *Proc. 12th Int. Conf. Art. Insem. and Reprod.*, NAAB, Milwaukee, pp. 38-44.
- AMANN, R.P.; HOKANSON, J.F. i ALMQUIST, J.O. (1963). Cannulation of the bovine ductus deferens for quantitative recovery of epididymal spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 6: 65-69.
- AMANN, R.P.; JOHNSON, L.; THOMPSON, D.L. i PICKETT, B.W. (1976). Daily spermatozoal production, epididymal spermatozoal reserves and transit time of spermatozoa through the epididymis of the rhesus monkey. *Biol. Reprod.*, 15: 586-592.
- AMIR, D. i ORTAVANT, R. (1968). Influence de la fréquence des collectes sur la durée du transit des spermatozoïdes dans le canal épидидymaire du belier. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 8: 195-207.
- ANAKWE, O.O.; SHARMA, S.; HOFF, H.B.; HARDY, D.M. i GERTON, G.L. (1990). Maturation guinea pig sperm in the epididymis involves the modification of proacrosin oligosaccharide side chains. *Mol. Reprod. Dev.*, 29: 294-301.
- ANDOLZ, P.; BIELSA, M.A.; MARTÍNEZ, P.; GARCÍA-FRAMIS, V.; BENET-RUBINAT, J.M. i EGOZCUE, J. (1990). Detection of anti-sperm antibodies in serum, seminal plasma and cervical mucus by the immunobead test. *Hum. Reprod.*, 5(6): 685-689.
- ANDRÉ, J. (1983). *The Sperm Cell*. Martinus Nijhoff Publishers, The Hague.
- ARRIGHI, S. i ROMANELLO, M.G. (1984). Istofisiologia dell'epitelio dei condottini efferenti e del condotto dell'epididimo in *Equus asinus*. *Arch. Vet. It.*, 35: 137-151.
- ARRIGHI, S.; ROMANELLO, M.G. i DOMENEGHINI, C. (1986). Ultrastructural study on the epithelium lining ductus epididymis in adult cats (*Felis catus*). *Arch. Biol.*, 97: 7-24.
- ARRIGHI, S.; ROMANELLO, M.G. i DOMENEGHINI, C. (1991). Morphological examination of epididymal epithelium in the mule (*E. hinuus*) in comparison with parental species (*E. asinus* and *E. caballus*). *Histol. Histopath.*, 6: 325-337.
- ARRIGHI, S.; ROMANELLO, M.G. i DOMENEGHINI, C. (1993). Ultrastructure of epididymal epithelium in *Equus caballus*. *Ann. Anat.*, 175: 1-9.

- ASHDOWN, R.R. (1989). Anatomía del aparato reproductor masculino. A: HAFEZ, E.S.E. (ed.), *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. Interamericana/McGraw-Hill, México. Capt. 2, pp. 19-37.
- BACCETTI, B. i AFZELIUS, B.A. (1976). *The Biology of the Sperm Cell*. Monographs in Developmental Biology, Vol. 10. S. Karger, Basel.
- BACCETTI, B.; BURRINI, A.G.; COLLODEL, G.; MAGNANO, A.R.; PIOMBONI, P.; RENIERI, T. i SENSINI, C. (1989). Crater defect in human spermatozoa. *Gamete Res.*, 22: 249-255.
- BALTZ, J.M.; WILLIAMS, P.O. i CANE, R.A. (1990). Dense fibers protect mammalian sperm against damage. *Biol. Reprod.*, 43: 485-491.
- BAMBA, K. i CRAN, D.G. (1992). Effects of treatment with butylated hydroxytoluene on the susceptibility of boar spermatozoa to cold stress and dilution. *J. Reprod. Fertl.*, 95: 69-77.
- BANE, A. i NICANDER, L. (1965). Pouch formations by invaginations of the nuclear envelope of bovine and porcine sperm as a sign of disturbed spermiogenesis. *Nord. Vet. Med.*, 17: 628-632.
- BANE, A. i NICANDER, L. (1966). Electron and light microscopical studies on spermateliosis in a boar with acrosome abnormalities. *J. Reprod. Fertl.*, 11: 133-138.
- BARRATT, C.L.R.; BOLTON, A.E. i COOKE, I.D. (1990). Functional significance of white blood cells in the male and female reproductive tract. *Hum. Reprod.*, 5(6): 639-648.
- BARTH, A.D.; BOWMAN, P.; BO, G. i MAPLETOFT, R. (1992). Effect of narrow sperm head shape on fertility in cattle. *Can. Vet. J.*, 33: 31-39.
- BARTH, A.D. i OKO, R.J. (1989). *Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa*. Iowa State University Pres. Ames. pp. 285.
- BARTHELEMY, C.; THAPANNE, M.J.; LEBOS, C.; LECOMTE, P. i LANSAC, J. (1990). Tail stump spermatozoa: morphogenesis of the defect: An ultrastructural study of sperm and testicular biopsy. *Andrologia*, 22: 417-425.
- BARTOOV, B.; ELTES, F.; PANSKY, M.; LEDERMAN, H.; CASPI, E. i SOFFER, Y. (1993). Estimating fertility potential via semen analysis data. *Hum. Reprod.*, 8 (1): 65-70.
- BEDFORD, J.M. (1975). Maturation, transport and fate of spermatozoa in the epididymis. A: HAMILTON, D.W. i GREEP, R.O. (eds), *Handbook of Physiology*, Sect. VII Endocrinology, Vol. 5 Male Reproductive System. Amer. Physiol. Soc., Washington, DC, pp. 303-317.
- BEDFORD, J.M. i CALVIN, H.I. (1974). Changes in the S-S linked structures of the sperm tail during epididymal maturation with comparative observations in submammalian species. *J. Exp. Zool.*, 187: 181-204.
- BEDFORD, J.M.; CALVIN, H. i COOPER, G.W. (1973). The maturation spermatozoa in the human epididymis. *J. Reprod. Fertl.*, 18: 199-213.
- BEDFORD, J.M.; MOORE, H.D.M. i FRANKLIN, L.E. (1979). Significance of the equatorial segment of the acrosome of the spermatozoon in Eutherian mammals. *Exp. Cell. Res.*, 119: 119-126.
- BEDFORD, J.M. i NICANDER, L. (1971). Ultrastructural changes in the acrosome and sperm membranes during maturation of spermatozoa in the testis and epididymis of the rabbit and monkey. *J. Anat.*, 108: 527-543.
- BEDFORD, J.M. i RIFKIN, J.M. (1979). An evolutionary view of the male reproductive tract and sperm maturation in a monotreme mammal the echidna *tachyglossus-aculeatus*. *Am. J. Anat.*, 156: 207-230.
- BENNETT, J.P. i ROWSON, L.E.A. (1963). A fistula for the collection of epididymal semen from the bull. *J. Reprod. Fertl.*, 6: 61-64.
- BIELEKE, B. i LETZ, W. (1975). Investigations on the fertility of AI boars with unstable sperm morphology. *Mh. Vet. Med.*, 30: 298-303.
- BISHOP, D.W. (1961). Biology of spermatozoa. A: YOUNG, W.C. (ed), *Sex and Internal Secretions*, Vol. II. Williams & Wilkinson, Baltimore, pp. 707-796.

- BLOM, E. (1968). A new sperm defect "pseudo-droplets" in the middle piece of the bull sperm. *Nord. Vet. Med.*, 20: 279-283.
- BLOM, E. (1973). The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. *Nord. Vet. Med.*, 28: 515-518.
- BLOM, E. (1980). Rolled and nuclear crest sperm defects in a rare case of presumed diploidy in the bull. *Nord. Vet. Med.*, 32: 409-416.
- BLOM, E. i WOLSTRUP, C. (1976). Zinc as a possible causal factor in the sterilizing sperm tail defect, the "Dag" defect, in Jersey bulls. *Nord. Vet. Med.*, 28: 515-518.
- BOADA, M. i PONSÀ, M. (1987). Ultrastructural studies of human gametes. A: Egozcue, J. (ed), *Cellular Aspects of In Vitro Fertilization*. Springer International and University of the Basque Country. Leioa. pp.3-11.
- BONADONNA, T. (1989). *Reproducción Animal e Inseminación Artificial*. Tomo II. Hemisferio Sur, S.A., Buenos Aires.
- BONET, S. (1987). Estudio del eyaculado de un verraco Landrace Alemán al microscopio electrónico de barrido. *Rev. Asoc. Nac. Porcnocult. Cient. (Anaporc)*, 63: 20-25.
- BONET, S. (1988). Contribución al conocimiento microscópico de la calidad espermática de *Sus domesticus*: metodología aplicada. *Rev. Asoc. Nac. Porcnocult. Cient. (Anaporc)*, 74: 64-65.
- BONET, S. (1990). Immature and aberrant spermatozoa in the ejaculate of *Sus domesticus*. *Anim. Reprod. Sci.*, 22: 67-80.
- BONET, S. i BRIZ, M. (1991). Comparison between the conventional method and the simple desiccation method in porcine sperm processing for scanning electron microscopy. *J. Microscopy*, 162 (2): 291-294.
- BONET, S. i CASTELLANOS, M. (1989). Estudi de la qualitat espermàtica de *Sus domesticus* i la seva repercussió en les explotacions porcínes. *Biol. Reprod. (Soc. Cat. Biol.)*, 1: 204-210.
- BONET, S.; BRIZ, M. i FRADERA, A. (1991). The sperm quality and fertility of boars after two different ejaculation frequencies. *Scientia gerun.*, 17: 77-84.
- BOOTH, W.D. (1983). In vitro metabolism of unconjugated androgens, oestrogens and the sulphate conjugates of androgens and oestrogens by accessory sex organs of the mature domestic boar. *J. Endocr.*, 96: 457-464.
- BOSTOFTE, E.; SERUP, J. i REBBE, H. (1982). Relationship between morphologically abnormal spermatozoa and pregnancies obtained during twenty years of follow-up period. *Int. J. Androl.*, 5: 379-386.
- BOULANGER, P.; SAULNIERS, M.; BLEAU, G.; ROBERTS, K.D. i CHAPDELAIN, A. (1983). Sex steroid concentrations in plasma from the canine deferential vein. *J. Endocr.*, 96: 223-228.
- BOWER, R.E.; GRAHAM, E.F. i CRABO, B. (1973). A technique for collecting epididymal spermatozoa and fluids from the boar virtually free from accessory sex gland secretions. *J. Reprod. Fertl.*, 33: 319-322.
- BOYERS, S.P.; DAVIS, R.O. i KATZ, D.F. (1989). *Automated Semen Analysis. Current Problems in Obstetrics, Gynaecology and Fertility*. Vol. XII, No. 5. Year Book Medical Publishers. Chicago.
- BREED, W.G. (1983). Variation in sperm morphology in the Australian rodent genus, *Pseudomys* (Muridae). *Cell Tissue Res.*, 229: 611-625.
- BRONSON, R.A. (1988). Current concepts on the relation of antisperm antibodies and infertility. *Semin. Reprod. Endocrinol.*, 6: 363-368.
- BROTHERTON, J. (1973). Estimation of number, mean size and size distribution of human spermatozoa using a coulter counter. *J. Reprod. Fertl.*, 35: 626.
- BROWN, D. i MONTESANO, R. (1981). Membrane specialization in the rat epididymis. II. Clear cells. *Anat. Rec.*, 201: 477-483.

- BURGOS, M.H.; FORNÉS, M.W.; GUTIÉRREZ, L.S. i VINCENTI, A. (1992). El proceso de maduración del espermatozoide durante el tránsito epididimario. *V Congr. Iberoam. Biol. Cel. (Málaga)*, 16 (Reprod.): 70.
- BUTTLE, H.R.L. i HANCOCK, J.L. (1965). Sterile boars with "knobbed" acrosomes. *J. Agric. Sci. (abst.)*, 65: 255.
- BUXADÉ, C. (1984). *Ganado Porcino: Sistemas de Explotación y Técnicas de Producción*. Mundi-Prensa, Madrid. Capt. V, pp. 119-148.
- CALAMERA, J.C. i VILAR, O. (1979). Comparative study of sperm morphology with different staining procedures. *Andrologia*, 4: 255.
- CALVIN, H.I. (1979). Electrophoretic evidence for the identity of the major zinc binding polypeptides in the rat sperm tail. *Biol. Reprod.*, 21: 873-882.
- CALVIN, H.I. i BEDFORD, J.M. (1971). Formation of disulphide bonds in the nucleus and accessory structures of mammalian spermatozoa during maturation in the epididymis. *J. Reprod. Fertil.*, 13: 65-75.
- CALVIN, H.I.; WANG, F.H. i WOHLRAB, H. (1975). Localization of zinc in a dense fiber connecting piece fraction of rat sperm tails analogous chemically to hair keratin. *Biol. Reprod.*, 13: 228-239.
- CALVIN, H.I.; YU, C.C. i BEDFORD, J.M. (1973). Effects of epididymal maturation, zinc and copper on the reactive sulphhydryl content of structural elements in rat spermatozoa. *Exp. Cell. Res.*, 81: 333-341.
- CAMERON, R.D.A. (1985). Factors influencing semen characteristics in boars. *Aust. Vet. J.*, 62: 293-297.
- CAMERON, R.D.A. (1990). Desarrollo sexual y producción de semen en verracos. *Rev. Asoc. Nac. Porcinocult. Cient. (Anaporc)*, 91: 30-38.
- CAMPARELLA, C.; GABBIANNI, G.; BACCETTI, B.; BURRINI, A.G. i PALLINI, V. (1979). Actin and myosin in the vertebrate acrosomal region. *J. Submicrosc. Cytol.*, 11: 53-71.
- CLARKE, G.N. (1990). Detection of antisperm antibodies using immunobeads. A: KEEL, B.A. i WEBSTER, B.W. (eds), *Handbook of the Laboratory Diagnosis and Treatment of Infertility*. CRC Press, Boca Raton, FL. Capt. 10, pp. 177-192.
- CLARKE, G.N.; LOPATA, A.; McBAIN, J.C.; BAKER, H.W.G. i JOHNSTON, W.I.H. (1985). Effects of sperm antibodies in males on human in vitro fertilization (IVF). *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.*, 8: 62-66.
- CLARKE, G.N.; STOJANOFF, A. i CAUCHI, M.N. (1982). Immunoglobulin class of sperm-bound antibodies in semen. A: BRATANOV, K. (ed), *Proc. Int. Symp. Immunology of Reproduction*. Bulgarian Academy of Sciences Press, Bulgaria, pp. 482.
- CLEGG, E.D.; MORRÉ, D.J. i LUNSTRA, D.D. (1975). Porcine sperm membranes: In vivo phospholipid changes, isolation and electron microscopy. A: DUCKETT, J. i RACEY, P.A. (eds), *The Biology of the Male Gamete*. Academic Press, London, pp. 321-335.
- CONNELL, C.J. i DONJACOUR, A.M. (1985). A morphological study of the epididymides of control and estradiol-treated prepubertal dogs. *Biol. Reprod.*, 33: 951-959.
- COOPER, A.M. i PETT, R.L. (1984). Infertility in a Hereford bull associated with increased numbers of detached sperm heads in his ejaculate. *Aust. Vet. J.*, 60: 225-231.
- COOPER, T.G. (1986). *The Epididymis, Sperm Maturation and Fertilisation*. Springer-Verlag, Berlin.
- COOPER, T.G. (1990). In defense of a function for the human epididymis. *Fertil. Steril.*, 54 (6): 965-975.
- CORTADELLAS, N. (1991). *La maduració de l'acrosoma i de la gota citoplasmàtica en l'espermatozoide de Mesocricetus auratus*. Estudi ultraestructural i citoquímic. Tesi doctoral. Universitat de Barcelona.

- DUCKETT, J. I RACEY, P.A. (1975). *The Biology of the Male Gamete*. Academic Press, London.
- DUIJN Van, C. (1960). Mesuration of the heads of boar spermatozoa. *Mikroscope*, 15: 142-156.
- DUIJN Van, C., Jr.; VOORST Van, C. I FREUND, M. (1971). Movement characteristics of human spermatozoa analysed from kinemicrographs. *Eur. J. Obstet. Gynecol.*, 4: 121.
- EINARSSON, S. (1971). Studies in the composition of epididymal content and semen in the boar. *Acta Vet. Scand.*, 36 (suppl.): 1-81.
- EINARSSON, S. I FUNKQUIST, B. (1979). Surgical technique for establishment of ductus deferens fistula in the boar. *Int. J. Androl.*, 2: 581-584.
- ELJACK, A.H. I HRUDKA, F. (1979). Patterns and dynamics of teratozoospermia induced in rams by parenteral treatment with ethylene dibromide. *J. Ultrastruct. Res.*, 67: 124-134.
- ELLIASSON, R. I LINDHOLM, C. (1974). Relationship between cellular zinc concentration and morphology of human sperm tails. *Proc. 8th. World Congr. Fertil. Steril. Buenos Aires*.
- ELLIASSON, R. I TREICHL, M.B. (1971). Supravital staining of human spermatozoa. *Fertil. Steril.*, 22: 134-137.
- ENGINSU, M.E.; DUMOULIN, J.C.M.; PIETERS, M.H.E.C.; BRAS, M.; EVERS, J.L.H. I GERAEDTS, J.P.M. (1991). Evaluation of human sperm morphology using strict criteria after Diff-Quik staining: correlation of morphology with fertilization in vitro. *Hum. Reprod.*, 6(6): 854-858.
- ERLANDSEN, S.L.; GOULD, R.P.; FRETHERM, C.; WELLS, C.L.; PAWLEY, J. I HAMILTON, D.W. (1989). Membrane fixation for high-resolution low voltage SEM: Studies on *Giardia*, rat spermatozoa, and mouse macrophages. *Scanning*, 11: 169-175.
- ESPONDA, P. (1985). *Spermiogenesis and spermatozoa in Mammals*. Ed. Universidad del Pais Vasco. Leioa. 99pp.
- EVENSON, D.P.; DARZYNKIEWICZ, Z. I MELAMED, M.R. (1980). Relation of mammalian sperm chromatin heterogeneity to fertility. *Science*, 210: 1131-1133.
- EVENSON, D.P.; PARKS, J.E.; KAPROTH, M.T. I JOST, L.K. (1993). Rapid determination on sperm cell concentration in bovine semen by flow cytometry. *J. Dairy Sci.*, 76 (1): 86-94.
- FAIN-MAUREL, M.A.; DADOUNE, J.P. I ALFONSI, M.F. (1981). High-resolution autoradiography of newly formed proteins in the epididymis after incorporation of tritiated aminoacids. *Arch. Androl.*, 6: 249-266.
- FAWCETT, D.W. (1970). A comparative view of sperm ultrastructure. *Biol. Reprod. (Suppl.)*, 2: 90-127.
- FAWCETT, D.W. (1975). Morphogenesis of the mammalian sperm acrosome in new perspective. A: B.A. Afzelius (ed): *The Functional Anatomy of the Spermatozoon*. Ed. Pergamon Press. Oxford. pp. 199-210.
- FAWCETT, D.W.; ANDERSON, W.A. I PHILLIPS, D.M. (1971). Morphogenetic factors influencing the shape of the sperm head. *Dev. Biol.*, 26: 220-251.
- FAWCETT, D.W. I BEDFORD, J.M. (1979). *The Spermatozoon*. Urban and Schwarzenberg, Baltimore.
- FAWCETT, D.W. I PHILLIPS, D.M. (1969). The fine structure and development of the neck region of the mammalian spermatozoa. *Anat. Rec.*, 165: 153-184.
- FLICKINGER, C.J. (1979). Synthesis, transport and secretion of protein in the initial segment of the mouse epididymis as studied by electron microscope radioautography. *Biol. Reprod.*, 20: 1015-1030.
- FLICKINGER, C.J. (1983). Synthesis and secretion of glycoproteins by the epididymal epithelium. *J. Androl.*, 4: 157-161.
- FLICKINGER, C.J. (1985). Radioautographic analysis of the secretory pathway for glycoproteins in principal cells of the mouse epididymis exposed to [³H] fucose. *Biol. Reprod.*, 32: 377-389.

- FLICKINGER, C.J.; HERR, J.C. & KLOTZ, L. (1988). Immunocytochemical localization of the major glycoprotein of epididymal fluid from the cauda in the epithelium of mouse epididymis. *Cell Tissue Res.*, 251: 603-610.
- 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.
- FORNES, M.W. & DE ROSAS, J.C. (1989). Changes in the rat sperm head during epididymal transit. *Gamete res.*, 24: 453-460.
- FREISCHEM, C.W.; KNUTH, U.A.; LANGER, K.; SCHNEIDER, H.P.G. & NIESCHLAG, E. (1984). The lack of discriminant seminal and endocrine variables in the partners of fertile and infertile women. *Arch. Gynecol.*, 236: 1-12.
- FUJITA, T.; MIYOSHI, M. & TOKUNAGA, J. (1970). Scanning and transmission electron microscopy of human ejaculate spermatozoa with special reference to their abnormal forms. *Z. Zellforsch. Microsk. Anat.*, 105: 483-497.
- GANJAM, V.K.; WHELAN, H.A. & BRACKETT, B.G. (1980). Steroid and protein components within the stallion. *J. Androl. (Abstr.)*, 1: 84.
- GARNER, D.L. (1991). Artificial insemination. A: CUPPS, P.T. (ed), *Reproduction in Domestic Animals*. Academic Press, Inc., San Diego, California. Capt. 7, pp. 250-278.
- GARNER, D.L. & HAFEZ, E.S.E. (1989). Espermatozoides y plasma seminal. A: HAFEZ, E.S.E. (ed.), *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. Interamericana/ McGraw-Hill, México. Capt. 9, pp. 205-226.
- GEBAUER, M.R.; PICKETT, B.W. & SWIERSTRA, E.E. (1974). Reproductive physiology of the stallion. III. Extragonadal transit time and sperm reserves. *J. Anim. Sci.*, 39: 737-742.
- GHETIE, V. (1939). Präparation und Länge des Ductus epididymis beim Pferd und Schwein. *Anat. Anz.*, 87: 369-374.
- GILMORE, D.P.; HOOKER, R.H. & CHANG, M.C. (1971). A technique for the collection by fistula of epididymal spermatozoa from the rat. *J. Reprod. Fertil.*, 25: 137-140.
- GLOVER, T.D. & NICANDER, L. (1971). Some aspects of structure and function in the mammalian epididymis. *J. Reprod. Fertil. (suppl.)*, 13: 39-50.
- GOYAL, H.O. (1985). Morphology of the bovine epididymis. *Am. J. Anat.*, 172: 155-172.
- GOYAL, H.O. & DHINGRA, L.D. (1975). The postnatal histology of the epididymis in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Acta Anat.*, 91: 573-582.
- GOYAL, H.O. & WILLIAMS, C.S. (1991). Regional differences in the morphology of the goat epididymis: a light microscopic and ultrastructural study. *Am. J. Anat.*, 190: 349-369.
- GRAY, J. (1958). The movement of the spermatozoa of the bull. *J. Exp. Biol.*, 35: 96.
- GREENBERG, J. & FORSSMANN, W.G. (1983). Studies of the guinea pig epididymis. I. Ultrastructure and quantitative morphology of the principal cells. *Anat. Embryol.*, 168: 173-194.
- GRIGNON, G.R.; HATIER, R. & MALAPRADE, D. (1981). Histogenesis of the epididymis. *Prog. Reprod. Biol.*, 8: 12-20.
- GURAYA, S.S. (1987). *Biology of Spermatogenesis and Spermatozoa in Mammals*. Springer-Verlag, Berlin.
- HAFEZ, E.S.E. (1989). *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. Interamericana/ McGraw-Hill, México.
- HAMILTON, D.W. (1975). Structure and function of the epithelium lining the ductuli efferentes, ductus epididymidis and ductus deferens in the rat. A: HAMILTON, D.W. & GREEP, R.O. (eds), *Handbook of Physiology*, Sect. VII Endocrinology, Vol. 5 Male Reproductive System. Amer. Physiol. Soc., Washington, DC, pp. 259-301.

- HANCOCK, J.L. (1956). The morphology of boar spermatozoa. *J. R. Microsc. Soc.*, 76: 84-97.
- HANCOCK, J.L. i HOWELL, G.J.L. (1959). The collection of boar semen. *Vet. Rec.*, 71: 664-665.
- HARAYAMA, H. i KATO, S. (1992). Changes in motility and morphology of spermatozoa during their transit through the epididymis in Meishan boars at various ages. *Amin. Sci. Technol.*, 63 (5): 462-467.
- HARAYAMA, H.; KATO, S.; NANJO, I.; KANDA, S. i TOKUMARU, T. (1988). Storage of Meishan pig spermatozoa. *Jpn. J. Anim. Reprod. Technol.*, 10: 10-14.
- HARGREAVE, T.B. i NILSSON, S. (1983). Seminology. A: HARGREAVE, T.B. (ed), *Male Infertility*. Springer, Berlin, pp. 56.
- HARVEY, C. (1960). The speed of human spermatozoa and the effect on it of various diluents, with some preliminary observations on clinical material. *J. Reprod. Fertl.*, 1: 84-95.
- HAYAT, M.A. (1989). *Principles and Techniques of Electron Microscopy: Biological Applications*. Ed. MacMillan Press. Hong Kong. 469pp.
- HELLANDER, J.C.; SAMPER, J.C. i CRABO, B.G. (1991). Fertility of a stallion with low sperm motility and a high incidence of an unusual sperm tail defect. *The Veterinary Record*, 11: 449-451.
- HELLMEM, E.; PLOEN, L.; SETTERGREN, I. i NICANDER, L. (1980). Middle piece defects of testicular origin in bull sperm. *Nord. Vet. Med.*, 32: 423-426.
- HENDRY, W.F.; MORGAN, H. i STEDRONSKA, J. (1977). The clinical significance of antisperm antibodies in male subfertility. *Br. J. Urol.*, 49: 757.
- HIB, J.; PONZIO, R.O. i VILAR, O. (1979). Contractile behaviour of rat epididymis after sympathectomy produced by the administration of guanethidine. *Andrologia*, 11: 461-465.
- HIKIM, A.P.S. i HOFFER, A.P. (1988). Duration of epididymal sperm transit in hamster: an autoradiographic study. *Gamete Res.*, 19: 411-416.
- HINRICHSEN, M.J. i BLAQUIER, J.A. (1980). Evidence supporting the existence of sperm maturation in the human epididymis. *J. Reprod. Fertl.*, 60: 291-294.
- HOFFER, A.P. i GREENBERG, J. (1978). The structure of the epididymis, efferent ductules and ductus deferens of the guinea pig: A light microscope study. *Anat. Rec.*, 190: 659-678.
- HOFFER, A.P. i KARNOVSKY, M.L. (1981). Studies on zonation in the epididymis of guinea pig. I. Ultrastructural and biochemical analysis of the zone rich in large lipid droplets (zone II). *Anat. Rec.*, 175: 169-202.
- HOFFER, A.P.; HAMILTON, D.W. i FAWCETT, D.W. (1973). The ultrastructure of the principal cells and intraepithelial leucocytes in the initial segment of the rat epididymis. *Anat. Rec.*, 175: 169-202.
- HOFMANN, N.; FERRERS, B. i HILSCHER, B. (1992). Correlation between multiheaded spermatozoa in the ejaculate and histological findings in the testis. *Andrologia*, 24: 227-230.
- HOLST, S.J. (1949). Sterility in boars. *Nord. Vet. Med.*, 1: 87-120.
- HOLSTEIN, A.F. (1969). Morphologische Studien am Nebenhoden des Menschen. A: BARGMAN, W. i DOERR, W. (eds), *Zwanglose Abhandlungen aus dem Gebiet der normalen und pathologischen Anatomie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, pp. 1-91.
- HOLSTEIN, A.F. i ROOSEN RUNGE, E.C. (1985). *Atlas of human spermatogenesis*. Goose Verlag, Berlin.
- HOLT, W.V. (1982). Epididymal origin of a coiled-tail sperm defect in a boar. *J. Reprod. Fertl.*, 64: 485-489.
- HOLT, W.V. (1993). Sperm assessment by computer. *European Microscopy and Analysis*, 21: 7.

- HOLT, W.V.; MOORE, H.D.M. & HILLIER, S.G. (1985). Computer-assisted measurement of sperm swimming speed in human semen: correlation of results with in vitro fertilization assays. *Fertil. Steril.*, 44: 112-119.
- HOLTZ, W. & SMIDT, D. (1976). The fertilizing capacity of epididymal spermatozoa in the pig. *J. Reprod. Fertil.*, 46: 227-229.
- HOPPE, P.C. (1975). Fertilizing ability of mouse sperm from different epididymal regions and after washing and centrifugation. *J. Exp. Zool.*, 192: 219-222.
- HRUDKA, F. & ELJACK, A.F. (1979). The effect of ethylene dibromide on differentiation of the acrosome nucleus and transient nuclear appendages in ram spermatids. *J. Ultrastruc. Res.*, 67: 135-151.
- HUNTER, R.H.F.; HOLTZ, W. & HENFREY, P.J. (1976). Epididymal function in the boar in relation to the fertilizing ability of spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 46: 463-466.
- HUNTER, R.H.F.; HOLTZ, W. & HERMANN, H. (1978). Stabilizing role of epididymal plasma in relation to the capacitation time of boar spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.*, 1: 161-166.
- ISCHIMURA, S. (1975). Differences in red fluorescence of acridine orange bound to single stranded RNA and DNA. *Biopolymers*, 14: 1033.
- JACKOWSKI, L. & ROMANIUK, J. (1959). A rare sperm anomaly associated with complete sterility in a bull. *Med. Vet. (abs.)*, 15: 760.
- JAGER, S.; KREMER, J. & SLOCHTEREN-DRAAISMA Van, T. (1978). A simple method of screening for antisperm antibodies in the human male. *Int. J. Fertil.*, 23: 12-21.
- JANICK, J. & MacLEOD, J. (1970). The measurement of human spermatozoan motility. *Fertil. Steril.*, 21: 140.
- JECHT, E.W. & RUSSO, J.J. (1973). A system for the quantitative analysis of human sperm motility. *Andrologia*, 5: 215.
- JEYENDRAN, R.S.; VAN der VEN, H.H. & ZANEVELD, L.J.D. (1992). The hypoosmotic swelling test: an update. *Arch. Androl.*, 29: 105-116.
- JEYENDRAN, R.S.; VAN der VEN, H.H.; PEREZ-PELAEZ, M.; CRABO, B.G. & ZANEVELD, L.J.D. (1984). Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J. Reprod. Fertil.*, 70: 219-228.
- JOHNSON, L.A. & HOWARDS, S.S. (1976). Hyperosmolarity in intratubular fluids from hamster testis and epididymis: a micropuncture study. *Science*, 195: 492-493.
- JOHNSON, L.A. & PURSELL, V.G. (1975). Cannulation of ductus deferens of the boar: a surgical technique. *Am. J. Vet. Res.*, 36: 315-317.
- JONDET, R. (1971). Influence de l'intervalle récolte-dilution sur le pouvoir fécondant du sperme de taureau. *Il Late*, 3: 169.
- JONES, R.; HAMILTON, D.W. & FAWCETT, D.W. (1979). Morphology of the epithelium of the extratesticular rete testis, ductuli efferentes and ductus epididymidis of the adult male rabbit. *Am. J. Anat.*, 156: 373-400.
- JONES, R.; PHOLPRAMOOOL, C.; SETCHELL, B.P. & BROWN, C.R. (1981). Labelling of membrane glycoproteins on rat spermatozoa collected from different regions of the epididymis. *Biochem. J.*, 200: 457-460.
- JONES, R.C. (1971). Studies of the structure of the head of boar spermatozoa from the epididymis. *J. Reprod. Fertil. (Suppl.)*, 13: 51-64.
- JONES, R.C. (1971a). Ultrastructure of mammalian spermatozoa: the effects of buffer concentration in fixatives for boar spermatozoa. *Micron.*, 2: 350-362.
- JONES, R.C. (1971b). Studies of the structure of the head of boar spermatozoa from the epididymis. *J. Reprod. Fertil.*, 13: 51-64.

- JONES, R.C. (1973). Changes occurring in the head of boar spermatozoa: vesiculation or vacuolization of the acrosome. *J. Reprod. Fertil.*, 33: 113-118.
- JONES, R.C. (1973). The plasma membrane of ram, boar and bull spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 33: 179-183.
- JONES, R.C. (1975). Fertility and infertility in mammals in relation to sperm structure. A: *The Biology of the Male Gamete*. J.G. Duckett & P.A. Racey (eds). Academic Press. London. pp: 343-365.
- JONES, R.C. & MARTIN, I.C.A. (1973). The effects of dilution, egg yolk and cooling to 5°C on the ultrastructure of ram spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 35: 311-320.
- JONES, R.C.; HINDS, L.A. & TYNDALE-BISCOE, C.H. (1984). Ultrastructure of the epididymis of the tammar macropus-eugenii and its relationship to sperm maturation. *Cell Tissue Res.*, 237: 525-536.
- JOUANNET, P. (1981). Movement of human spermatozoa from caput epididymis. *Prog. Reprod. Biol.*, 8: 100-101.
- JOUANNET, P.; DUCOT, B.; FENEUX, D. & SPIRA, A. (1988). Male factors and the likelihood of pregnancy in infertile couples: I Study of sperm characteristics. *Int. J. Androl.*, 11: 379-394.
- KAMIDONO, S.; HAMAGUCHI, T.; OKADA, H.; HAZAMA, M.; MATSUMOTO, O. & ISHIGAMI, J. (1984). A new method for rapid spermatozoal concentration and motility: a multiple-exposure photography system using the Polaroid camera. *Fertil. Steril.*, 41: 620.
- KAMIDONO, S.; HAZAMA, M.; MATSUMOTO, O.; TAKADA, K.; TOMIOKA, O. & ISHIGAMI, J. (1983). Study of human spermatozoal motility: preliminary report on newly developed multiple exposure photography method. *Andrologia*, 15/2: 111.
- KAPLAN, M.; RUSSELL, J.D.; PETERSON, R.N. & MARTAN, J. (1984). Boar semen cytoplasmic droplets: their structure, their numbers in the epididymis and at ejaculation and their removal during isolation of sperm plasma membranes. *Tissue and Cell*, 16: 455-468.
- KATZ, D.F. & DOTT, H.M. (1975). Methods of measuring swimming speed of spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 45: 263.
- KATZ, D.F. & OVERSTREET, J.W. (1981). Sperm motility assessment by videomicrography. *Fertil. Steril.*, 35: 188-193.
- KEEL, B.A. (1990). The semen analysis. A: KEEL, B.A. & WEBSTER, B.W. (eds.), *Handbook of the Laboratory Diagnosis and Treatment of Infertility*. CRC Press, Boca Raton, FL. Capt. 3, pp. 27-69.
- KIERNAN, A.J. (1990). *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. Pergamon Press, Oxford.
- KING, G.J. & MacPHERSON, J.W. (1973). A comparison of two methods for boar semen collection. *J. Anim. Sci.*, 36: 563-565.
- KNUTH, U.A.; YEUNG, C. & NIESCHLAG, E. (1987). Computerized semen analysis: objective measurement of semen characteristics is biased by subjective parameter setting. *Fertil. Steril.*, 48: 118-124.
- KOBAYASHI, T.; JINNO, M.; SUGIMURA, K.; NOZAWA, S.; SUGIYAMA, T. & LIDA, E. (1991). Sperm morphological assessment based on strict criteria and in-vitro fertilization outcome. *Hum. Reprod.*, 6(7): 983-986.
- KOEFOED-JOHNSEN, H.H. (1961). *Om epididymis' funktion. I. Spermernes passage-hastighed gennem epididymis*. Annual Report, The Royal Veterinary and Agricultural College, Sterility Research Institute, Copenhagen.
- KOEFOED-JOHNSEN, H.H. & PEDERSEN, H. (1971). Further observations on the Dag defect of the tail of the bull spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 26: 77-83.
- KOEHLER, J.K. (1973). Studies of the structure of the postnuclear sheath of Water Buffalo spermatozoa. *J. Ultrastruct. Res.*, 44: 355-368.

- KOHANE, A.C.; GONZALEZ-ECHIEVERRIA, F.M.C.; PINEIRO, L. i BLAQUIER, J.A. (1980). Interaction of proteins of epididymal origin with spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 23: 737-742.
- KOJIMA, Y i KINOSHITA, Y. (1975). Fine structure of the multiple sperm syncytium in the boar testes. *Jap. J. Vet. Sci.*, 37: 555-568.
- KOJIMA, Y. (1981). Intracellular vacuoles or vesicles and invagination on boar spermatozoa. *Jap. J. Vet. Sci.*, 43: 37-41.
- KOJIMA, Y. (1990). Ultrastructure of boar testis: spindle shape body of spermatid. *Jap. J. Vet. Sci.*, 52: 1057-1062.
- KORTE, M.K. i MENGE, A.C. (1990). Detection of agglutinating and immobilizing antisperm antibodies. A: KEEL, B.A. i WEBSTER, B.W. (eds), *Handbook of the Laboratory Diagnosis and Treatment of Infertility*. CRC Press, Boca Raton, FL. Capt. 9, pp. 167-175.
- KOVÁCS, A. i FOOTE, R.H. (1992). Viability and acrosome staining of bull, boar and rabbit spermatozoa. *Biotech. Histochem.*, 67 (3): 119-124.
- KRAUSE, W. i ROTHAUGE, C.F. (1981). *Andrologie*. Encke, Stuttgart.
- KRUGER, T.F.; ACOSTA, A.A.; SIMMONS, K.F.; SWANSON, R.J.; MATTA, J.F. i OEHNINGER, S. (1988). Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 49: 112-117.
- KRUGER, T.F.; MENKVELD, R.; STANDER, F.S.H.; LOMBARD, C.J.; VAN der MERWE, J.P.; ZYL Van, J.A. i SMITH, K. (1986). Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 46: 118-123.
- KUMAR, T.C.A.; PRAKASH, A. i PRASAD, M.R.N. (1980). Ultrastructure of the clear cells lining the epididymal lumen of the rat. *Anat. Anz.*, 147: 220-230.
- LACROIX, B. i WARTER, S. (1982). Cytophotometric study of spermatozoa in normal subjects. *Andrologia*, 14: 110.
- LACY, D.; PETTITT, A.J.; PETTITT, J.M. i MARTIN, B.S. (1974). Application of scanning electron microscopy to semen analysis of the sub-fertile man utilising data obtained by transmission electron microscopy as an aid to interpretation. *Micron.*, 5: 135-173.
- LÄHTEENMÄKI, A. (1993). In-vitro fertilization in the presence of antisperm antibodies detected by the mixed antiglobulin reaction (MAR) and the tray agglutination test (TAT). *Hum. Reprod.*, 8(1): 84-88.
- LANCINA, J.L. (1980). Problemas reproductivos en el ganado porcino (II). *Revista técnico-ganadera*, 232: 8-9.
- LARSSON, K. i DARENIUS, K. (1980). The fertility of AI boars in relation to sperm viability after dilution and storage. A: N.C. Nielsen, P. Høgh i N. Bille (eds), *Proc. Int. Pig. Veterinary Symposium*. Copenhagen, Denmark. p. 36.
- LARSSON, K.; DARENIUS, K. i JOHANSSON, K. (1980). Sperm morphology and in vitro viability in diluted semen in relation to fertility of AI boars. *Nord. Vet. Med.*, 32: 533-542.
- LASZCZYNSKA, M.; ROZEWICKA, L.; DOMINIAK, B. i PIASECKA, M. (1990). Lamellar bodies in epithelial cells of epididymal caput in the rat. *Folia Histochem. Cyto.*, 28: 164-165.
- LEINONEN, P.; HAMMONIS, G.L. i VIHKO, R. (1980). Testosterone and some of its precursors and metabolites in the human epididymis. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 51: 423-428.
- Le LANNOU, D.; Le PICHON, J.P.; QUERO, J.C. i DELAMARRE, D. (1990). Analyse des trajectoires des spermatozoides: autre aspect de l'hétérogénéité des populations spermatisques. *Contracept. Fertil. Sexual.*, 18: 530-531.
- LINDAHL, P.E. i DREVIUS, L.O. (1964). Observations on bull spermatozoa in a hypotonic medium related to sperm mobility mechanisms. *Exp. Cell Res.*, 36: 632-646.
- LINDEMANN, Ch.B. ; ORLANDO, A i KANOUS, K.S. (1992). The flagellar beat of rat sperm is organized by the interaction of two functionally distinct populations of dynein bridges with a stable central axonemal partition. *J. Cell Sci.*, 102: 249-260.

- LÓPEZ, M.L.; GREZ, P.; GRIBBEL, I. I BUSTOS-OBREGON, E. (1989). Cytochemical and ultrastructural characteristics of the stallion epididymis. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 21: 103-120.
- LUDWIG, G. I FRICK, J. (1990). *Spermatology: Atlas and Manual*. Springer-Verlag, Berlin.
- MAKLER, A. (1978a). A new multiple exposure photography method for objective human spermatozoal motility determination. *Fertil. Steril.*, 30: 192-199.
- MAKLER, A. (1978b). A new chamber for rapid sperm count and motility estimation. *Fertil. Steril.*, 30: 313-318.
- MAKLER, A. (1980a). The improved ten-micrometer chamber for rapid sperm count and motility evaluation. *Fertil. Steril.*, 33: 337-338.
- MAKLER, A. (1980b). Use of the elaborated MEP method in routine sperm motility analysis and for research purposes. *Fertil. Steril.*, 33: 160-168.
- MAKLER, A. I BLUMENFELD, Z. (1980). Optimum measurement time for human sperm velocity determination. *Arch. Androl.*, 5: 189.
- MAKLER, A.; MACLUSKY, N.J.; CHODOS, A.; HASELTINE, F. I DECHERNEY, A. (1984). Rapid microcomputer-based analysis of semen characteristics from photographs taken by the MEP method. *Arch. Androl.*, 12: 91.
- MAKLER, A.; TATCHER, M. I MOHILEVER, J. (1980). Sperm semi-autoanalysis by a combination of multiple exposure photography (MEP) and computer techniques. *Int. J. Fertil.*, 25: 62.
- MARTAN, J.; RISLEY, P.L. I HRUBAN, Z. (1964). Holocrine cells of the human epididymis. *Fertil. Steril.*, 15: 180-187.
- MARTÍN, S. (1982). *Reproducción e Inseminación Artificial Porcina*. Aedos, Barcelona.
- MARTÍNEZ, P. (1985). Apuntes sobre Inseminación Artificial en Porcino. *Comunidad Autónoma de la Región de Murcia* (Consejería de Agricultura, Ganadería y Pesca-Servicio de Extensión Agraria).
- MASHIACH, R.; FISCH, B.; ELTES, F.; TADIR, Y.; OVADIA, J. I BARTOOV, B. (1992). The relationship between sperm ultrastructural features and fertilizing capacity in vitro. *Fertil. Steril.*, 57(5): 1052-1057.
- MATHUR, S.; CARLTON, M.; ZIEGLER, J.; RUST, P.F. I WILLIAMSON, H.O. (1986). A computerized sperm motion analysis. *Fertil. Steril.*, 46: 484-488.
- McKENZIE, F.F.; MILLER, J.C. I BAUGUESS, I.C. (1938). The reproductive organs and semen of the boar. *Res. Bull. Missouri. Agr. Exp. Sta.*, 279: 122.
- MEISTRICH, M.L.; HUGHES, T.J. I BRUCE, W.R. (1975). Alteration of epididymal sperm transport and maturation in mice by oestrogen and testosterone. *Nature*, 258: 145-147.
- MELROSE, D.R. I O'HAGAN, C. (1959). Some observations on the collection of boar semen and its use for artificial insemination. *Ann. Zootech.*, (suppl.): 69-79.
- MENKVELD, R; ZYL Van, J.A. I KOTZE Van, T.J. (1984). A statistical comparison of three methods for the counting of human spermatozoa. *Andrologia*, 16: 554.
- MILLER, D.M.; HRUDKA, F.; CATES, W.F. I MAPLETOFT, R.J. (1982). Infertility in a bull with a nuclear sperm defect: a case report. *Theriotogenology*, 17: 611-621.
- MILLER, R.J. I KILLIAN, G.J. (1983). Rat epididymal halo cells have lymphocytic characteristics. *Biol. Reprod. (abst.)*, 28: 130.
- MOLLENHAUER, H.H. I MORRE, D.J. (1983). Some observations on the development of dictyosome like structures in guinea pig testes. *Protoplasma*, 116: 187-197.
- MOORE, H.D.M. I PRYOR, J.P. (1981). The comparative ultrastructure of the epididymis in monkeys and man: a search for a suitable animal model for studying epididymal physiology in Primates. *Am. J. Primatol.*, 1: 241-250.

- MOORE, H.D.M.; HARTMAN, T.C. i PRYOR, J.P. (1983). Development of the oocyte-penetrating capacity of spermatozoa in the human epididymis. *Int. J. Androl.*, 6: 310-318.
- MORRÉ, D.J.; CLEGG, E.D.; LUNSTRA, D.D. i MOLLENHAUER, H.H. (1974). An electron-dense stain for isolated fragments of plasma and acrosome membranes from porcine sperm. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 145: 1-6.
- MORSTIN, J. i COUROT, M. (1974). Ultrastructure des spermatozoïdes de taureaux de différente fécondance. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 14: 581-590.
- MORTIMER, D. (1986). A microcomputer-based semi-automated system for human sperm movement analysis. *Clin. Reprod. Fertil.*, 4: 283.
- MORTIMER, D. (1990). Objective analysis of sperm motility and kinematics. A: KEEL, B.A. i WEBSTER, B.W. (eds.), *Handbook of the Laboratory Diagnosis and Treatment of Infertility*. CRC Press, Boca Raton, FL. Capt. 6, pp. 97-133.
- MORTIMER, D. i MORTIMER, S.T. (1988). Influence of system parameter settings on human sperm motility analysis using CellSoft. *Hum. Reprod.*, 3: 621.
- MORTIMER, D.; CURTIS, E.F. i RALSTON, A. (1988). Semi-automated analysis of manually-reconstructed tracks of progressively motile human spermatozoa. *Hum. Reprod.*, 3: 303.
- NEUGEBAUER, D.Ch.; NEUWINGER, J.; JOCKENHÖREL, F. i NIESCHLAG, E. (1990). 9+0 axoneme in spermatozoa and nasal cilia of a patient with totally immotile spermatozoa associated with thickened sheath and short midpiece. *Hum. Reprod.*, 5: 981-986.
- NICANDER, L. (1957). Studies on the regional histology and cytochemistry of the ductus epididymis in stallions, rams and bulls. *Acta Morphol. Neerl. Scand.*, 1: 337-362.
- NICANDER, L. (1979). Fine structure of principal cells in the initial segment of the epididymal duct in the ram. *Zb. Vet. Med. C. Anat. Histol. Embryol.*, 8: 318-330.
- NICANDER, L. i BANE, A. (1962). Fine structure of boar spermatozoa. *Z. Zellforsch. Mikrosk. J. Anat.*, 57: 390-405.
- NICANDER, L. i BANE, A. (1966). Fine structure of the sperm head in some mammals, with particular reference to the acrosome and the subacrosomal substance. *Z. Zellforsch. Mikrosk. J. Anat.*, 72: 496-515.
- NICANDER, L. i GLOVER, T.D. (1973). Regional histology and fine structure of the epididymal duct in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *J. Anat.*, 114: 347-364.
- NICANDER, L. i MALMQUIST, M. (1977). Ultrastructural observations suggesting merocrine secretion in the initial segment of the mammalian epididymis. *Cell Tissue Res.*, 184: 487-490.
- NICANDER, L. i PLOEN, L. (1979). Studies on regional fine structure and function in the rabbit epididymis. *Int. J. Androl.*, 2: 463-481.
- NIKOLOPOULOU, M.; SOUCEK, D.A. i VARY, J.C. (1985). Changes in the lipid content of boar sperm plasma membranes during epididymal maturation. *Biochem. Biophys. Acta*, 815: 486-498.
- NIWA, T.; ITO, S.; KUDO, A.; MIZUHO, A. i SOEJIMA, A. (1959). Techniques of artificial insemination with swine in Japan. *Ann. Zootech.*, 8 (suppl.): 97-103.
- NOSSAL, R. (1971). Spectral analysis of laser light scattered from motile microorganisms. *Biophys. J.*, 11: 341.
- OEHNINGER, S.; ACOSTA, A.A.; MORSHEDI, M.; VEECK, L.; SWANSON, R.J.; SIMMONS, K.F. i ROSENWAKS, Z. (1988). Corrective measures and pregnancy outcome in in vitro fertilization in patients with severe sperm morphology abnormalities. *Fertil. Steril.*, 50: 283-287.
- OEHNINGER, S.; VEECK, L.; KRUGER, T.F. i ACOSTA, A.A. (1990). Critical evaluation of sperm morphology: comparison with in vitro fertilization. A: KEEL, B.A. i WEBSTER, B.W. (eds), *Handbook of the Laboratory Diagnosis and Treatment of Infertility*. CRC Press, Boca Raton, FL. Capt. 4, pp. 71-78.

- OLSON, G.E. (1979). Isolation of the fibrous sheath and perforatorium of rat spermatozoa. A: Fawcett, D.W. i Bedford, J.M. (eds). *The Spermatozoon*. Urban i Schwartzemberg, Baltimore. pp. 395-400.
- OMS. (1989). *Manual de Laboratorio para el Examen del Semen Humano y de la Interacción entre el Semen y el Moco Cervical*. Médica Panamericana, S.A., Buenos Aires.
- ORGBIN-CRIST, M.C. (1961). Étude du transit épiddymaire des spermatozoïdes de taureau marqués à l'aide du ^{32}P . *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 1: 117-120.
- ORGBIN-CRIST, M.C. (1965). Passage of spermatozoa labelled with thymidine³ through the ductus epididymis of the rabbit. *J. Reprod. Fertil.*, 10: 241-251.
- ORGBIN-CRIST, M.C. (1968). Studies on the function of the epididymis. *Biol. Reprod.*, 1: 155-175.
- ORGBIN-CRIST, M.C.; DANZO, B.J. i DAVIES, J. (1975). Endocrine control of the development and maintenance of sperm fertilizing ability in the epididymis. A: HAMILTON, D.W. i GREEP, R.O. (eds), *Handbook of Physiology*, Sect. VII Endocrinology, Vol. 5 Male Reproductive System. Amer. Physiol. Soc., Washington, DC, pp. 319-338.
- ORGBIN-CRIST, M.C. i OLSON, G.E. (1984). Epididymal sperm maturation. A: COUROT, M. (ed), *The Male in Farm Animal Reproduction*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, pp. 80-102.
- ORGBIN-CRIST, M.C.; OLSON, G.E. i DANZO, B.J. (1981). Factors influencing maturation of spermatozoa in the epididymis. A: FRANCHIMONT, P. i CHANNING, C.P. (eds), *Intragenadal Regulations of Reproduction*. Academic Press, London, pp. 393-417.
- ORTAVANT, R. (1953) Existence d'une phase critique dans la maturation épiddymaire des spermatozoïdes de bélier et de taureau. *C. R. Soc. Biol.*, 147: 1552-1556.
- ORTAVANT, R. (1959). Le cycle spermatogénétique chez le bélier. *Ann. Zootech.*, 8: 183-322.
- OVERSTREET, J.W.; KATZ, D.F.; HANSON, F.W. i FONSECA, J.R. (1979). A simple inexpensive method for objective assessment of human sperm movement characteristics. *Fertil. Steril.*, 31: 162-172.
- PAPANICOLAOU, G.N. (1942). A new procedure for staining vaginal smears. *Science*, 95: 438.
- PAQUIGNON, M. (1984). Semen technology in the pig. A: COUROT, M. (ed), *The Male in Farm Animal Reproduction*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, pp. 202-218.
- PHILLIPS, D.M. (1972). Comparative analysis of mammalian sperm motility. *J. Cell Biol.*, 53: 561-573.
- PHILLIPS, D.M. (1977). Mitochondrial disposition in mammalian spermatozoa. *J. Ultrastruc. Res.*, 58: 144-154.
- PHILLIPS, D.M. (1977). Surface of the equatorial segment of the mammalian acrosome. *Biol. Reprod.*, 16: 128-137.
- PLOEN, L. i HAKARSSON, N. (1978). Abnormal epididymal spermatozoa two to thirty-five days after a brief experimental cryptorchidism in the rabbit. *Int. J. Androl.*, 1: 250-261.
- POTTU-BOUMENDIL, J. (1989). *Microscopie Électronique: Principes et Méthodes de Préparation*. Inserm, Paris.
- PUJOL, A.; BAYARD, F.; LOVET, J.P. i BOULARD, B.G. (1980). Testosterone and dihydrotestosterone concentrations in plasma, epididymal tissues and seminal fluid of adults rats. *Endocrinology*, 98: 111-113.
- PURVIS, K.; TOLLEFSRUD, A. and RUI, H. (1989). Correlates of human sperm motility assessed by laser-doppler spectroscopy. *Int. J. Androl.*, 12: 10-16.
- RADFORD, P. (1961). Factors influencing the properties of boar semen. *Vet. Rec.*, 73: 798-800.

- RAMOS, A.S. 1 DYM, M. (1977). Fine structure of the monkey epididymis. *Am. J. Anat.*, 149: 501-532.
- RAO, B.; SOUFIR, J.C.; MARTIN, M. 1 DAVID, G. (1989). Lipid peroxidation in human spermatozoa as related to midpiece abnormalities and motility. *Gamete Res.*, 24: 127-134.
- RASBECH, N.O. (1984). The male and fertility of domestic animals. A: COURROT, M. (ed), *The Male in Farm Animal Reproduction*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, pp. 2-23.
- READ, M.D. 1 SCHNIEDEN, H. (1978). Variations in sperm count in oligozoospermic or asthenozoospermic patients. *Andrologia*, 10: 52.
- REID, B.L. 1 CLELAND, K.W. (1957). The structure and function of the epididymis. I. The histology of the rat epididymis. *Aust. J. Zool.*, 5: 223-246.
- REYNOLDS, E.S. (1963). The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, 17: 208-212.
- RISLEY, P.L. (1970). Fluorescence of holocrine epithelial cells of the epididymis. *Biol. Reprod.*, 3: 67-75.
- ROBAIRE, B. 1 HERMO, L. (1988). Efferent ducts, epididymis and vas deferens: structure, functions and their regulation. A: KNOBIL, E. 1 O'NEILL, J.D. (eds), *The Physiology of Reproduction*, Vol. I. Raven Press, New York, pp. 999-1080.
- ROBB, G.W.; AMANN, R.P. 1 KILLIAN, G.J. (1978). Daily sperm production and epididymal sperm reserves of pubertal and adult rats. *J. Reprod. Fertil.*, 54: 103-107.
- ROBERTS, M.L.; SCOUTEN, W.H. 1 NYQUIST, S.E. (1976). Isolation and characterization of the cytoplasmic droplet in the rat. *Biol. Reprod.*, 14: 421-424.
- ROGERS-NEAME, N.T.; GARRISON, P.N.; YOUNGER, J.B. 1 BLACKWELL, R.E. (1986). Determination of antisperm antibodies in infertile couples by Millititer filtration. *Fertil. Steril.*, 45: 299.
- ROTH, E. 1 SMIDT, D. (1970). On early semen collection by electro-ejaculation of German improved Landrace and Göttingen miniature pigs. *Berl. Münch. Tier. Wschr.*, 83: 7-11. (A.B.A., 1970: 2815).
- ROTHSCHILD, Lord. (1953). A new method for measuring the activity of spermatozoa. *J. Exp. Biol.*, 30: 178.
- RUSSELL, L.D.; PETERSON, R.N.; HUNT, W. 1 STRACK, L.E. (1984). Posttesticular surface modifications and contributions of reproductive tract fluids to the surface polypeptide composition of boar spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 30: 959-978.
- SAITOH, K.; TERADA, T. 1 HATAKEYAMA, S. (1990). A morphological study of the efferent ducts of the human epididymis. *Int. J. Androl.*, 13: 369-376.
- SÁNCHEZ, M.A.; FLORES, J.M.; CASTAÑO, M.; PIZARRO, M. 1 MATEOS REX, E. (1991). Evolución histológica post-natal del testículo y epidídimo de cabras murciano granadinas. *VII Congr. Nac. Histol. (Lugo)*, (abst.), pp. 161.
- SÁNCHEZ, R. (1991). Control de calidad espermática. *Rev. Asoc. Nac. Porcnocult. Cient. (Anaporc)*, 104: 27-33.
- SANTANDER, R.G. (1968). *Técnicas de Microscopia Electrónica en Biología*. Aguilar, Madrid.
- SARLÓS, P. 1 WEKERLE, L. (1990). Comparative evaluation of staining methods in the morphological examination of boar semen. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 45 (9): 533-537.
- SCHILL, W.B. (1991). Some disturbances of acrosomal development and function in human spermatozoa. *Human Reprod.*, 6(7): 969-978.
- SCHILLING, E. 1 VENGUST, M. (1987). Frequency of semen collection in boars and quality of ejaculates as evaluated by the osmotic resistance of acrosomal membranes. *Anim. Reprod. Sci.*, 12: 283-290.

- SCHILLING, E.; VENGUST, M.; BAST, G. i TOMCIC, M. (1986). The osmotic resistance test (ORT) of boar spermatozoa and the relation to pregnancy rate and litter size. *9th Congress IPVS, Barcelona*, p. 77.
- SCHIRREN, C.; ECKHARDT, U.; JACHCZIK, R. i CARSTENSEN, C.A. (1977). Morphological differentiation of human spermatozoa with testsimply slides. *Andrologia*, 9: 191.
- SETCHELL, B.P. (1991). Male reproductive organs and semen. A: CUPPS, P.T. (ed), *Reproduction in Domestic Animals*. Academic Press, Inc., San Diego, California. Capt. 6, pp. 221-249.
- SETTY, B.S. i JEHAN, Q. (1977). Functional maturation of the epididymis in the rat. *J. Reprod. Fertil.*, 49: 317-322.
- SHAFFER, H.E. i ALMQUIST, J.O. (1948). Vital staining of bovine spermatozoa with an eosin-aniline blue staining mixture. *J. Dairy Sci.*, 31: 677.
- SINGER, R.; SAGIV, M.; BARNET, M.; SEGENREICH, E.; ALLALOUF, D.; LANDAU, B. i SERVADIO, C. (1980). Motility, vitality and percentage of morphologically abnormal forms of human spermatozoa in relation to sperm counts. *Andrologia*, 12: 92.
- SINGH, G. (1962). Durée de passage dans l'épididyme des spermatozoïdes des verrats marqués au P³². *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 2: 43-46.
- SINGH, U.B. i BHARADWAY, M.B. (1980). Histological studies on the testicular seminal pathway and changes in the epididymis of the camel (*Camelus dromedarius*) (Part IV). *Acta Anat.*, 108: 481-489.
- SMIDT, D. (1965). *Die Schwetne Besamung*. Verlas M.H. Schaper, Hannover.
- SOKOLOSKI, J.E.; BLASCO, L.; STOREY, B.T. i WOLF, D.P. (1977). Turbidimetric analysis of human sperm motility. *Fertil. Steril.*, 28: 1337-1341.
- SOLER, C.; PEREZ, F. i De MONTERRAT, J.J. (1991). Consideracions sobre l'estructura i la funció de l'epididim dels mamífers. *Treb. Soc. Cat. Biol.*, 42: 63-85.
- SORANZO, L.; DADOUNE, J.P. i FAIN-MAUREL, M.A. (1982). Segmentation of the epididymal duct in mouse: an ultrastructural study. *Reprod. Nutr. Dev.*, 22: 999-1012.
- SPARK, R.F. (1988). Evaluation of the infertile male. A: *The Infertile Male*. Plenum Publishing Corporation, New York. Capt. 13, pp. 194-199.
- SPARK, R.F. (1988). *The Infertile Male: The Clinician's Guide to Diagnosis and Treatment*. Plenum. N.Y.
- SPARK, R.F.; GRAHAM, E.F. i CRABO, B. (1973). A technique for collecty epididymal spermatozoa and fluids from accessory sex gland secretions. *J. Reprod. Fert.*, 33: 319-322.
- SPURR, A.R. (1969). A low viscosity epoxy-resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.*, 26: 31-43.
- STACKPOLE, C.W. i DEVORKIN, D. (1974). Membrane organization in mouse spermatozoa revealed by freeze-etching. *J. Ultrastruc. Res.*, 49: 167-187.
- STEINER, R.; HOFMANN, N.; HARTMANN, R.; BAUMEISTER, T. i KAUFMANN, R. (1981). *Laser-Doppler-Spektroskopie-Experimentelle Untersuchungen zu Einsatzmöglichketten in biomedizinischer Forschung und klinischer Diagnostik*. Mannhold, Düsseldorf.
- STOFFEL, M.H.; FRETHERM, C.; HAMILTON, D.W. i FRIESS, A.E. (1993). Improved preservation of rat epididymal sperm for high-resolution low voltage scanning: electron microscopy (HR-LVSEM). *Molec. Reprod. Dev.*, 34: 175-182.
- SUN, E.L. i FLICKINGER, C.J. (1979). Development of cell types and regional differences in the postnatal rat epididymis. *Am. J. Anat.*, 154: 27-56.
- SUN, E.L. i FLICKINGER, C.J. (1980). Morphological characteristics of cells with apical nuclei in the initial segment of the adult rat epididymis. *Anat. Rec.*, 196: 285-293.

- SUN, E.L. & FLICKINGER, C.J. (1982). Proliferative activity in the rat epididymis during postnatal development. *Anat. Rec.*, 203: 273-284.
- SUZUKI, F. & NAGARO, T. (1980). Epididymal maturation of rat spermatozoa studied by thin sectioning and freeze-fracture. *Biol. Reprod.*, 22: 1219-1231.
- SUZUKI, F. & RACEY, P.A. (1976). Fine structural changes in the epididymal epithelium of moles (*Talpa europaea*) throughout the year. *J. Reprod. Fertl.*, 47: 47-54.
- SWANSON, E.W. & BOYD, L.J. (1961). Factors affecting coiled-tail spermatozoa in the bull. *Am. J. Vet. Res.*, 23: 300-309.
- SWIERSTRA, E.E. (1968). Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar; duration of spermatozoan transit through the epididymis. *Anat. Rec.*, 161: 171-186.
- SWIERSTRA, E.E. & FOOTE, R.H. (1965). Duration of spermatogenesis and spermatozoan transport in the rabbit based on cytological changes, DNA synthesis and labelling with tritiated thymidine. *Am. J. Anat.*, 116: 401-412.
- TADMOR, A.; SCHINDLER, H. & KEMPENICH-PINTO, O. (1969). A further approach to the establishment of a fistula in the vas deferens of rams. *J. Reprod. Fertl.*, 20: 523-525.
- TAGGART, D.A. & TEMPLE-SMITH, P.D. (1989). Structural features of the epididymis in a dasyurid marsupial *Antechinus-Stuartii*. *Cell Tissue Res.*, 258: 203-210.
- TAKSNASHI, A.; UCHIDA, A. & KITAO, M. (1990). Hypoosmotic swelling test of sperm. *Archives of Andrology*, 25: 225-242.
- TALBOT, P. & CHACON, R.S. (1981). A triple stain technique for evaluating normal acrosome reactions of human sperm. *J. Exp. Zool.*, 215: 201-208.
- TAMBLYN, T.M. (1981). Evidence for nonmuscle myosin in bovine ejaculated spermatozoa. *Gamete Res.* 4: 499-506.
- TAYMOR, M.L. (1990). *Infertility: A Clinician's Guide to Diagnosis and Treatment*. Plenum, N. Y.
- TAYMOR, M.L. (1990). Semen analysis. A: *Infertility*. Plenum Publishing Corporation, New York. Cap. 12, pp. 89-98.
- TEJADA, R.I.; MITCHELL, J.C.; NORMAN, A.; MARIK, J.J. & FRIEDMAN, S. (1984). A test for the practical evaluation of male fertility by acridine orange (AO) fluorescence. *Fertil. Steril.*, 42: 87-91.
- TEMPLE-SMITH, P.D. (1984). Phagocytosis of sperm cytoplasmic droplets by a specialized region in the epididymis of Brushtailed Possum, *Trichosurus Vulpecula*. *Biol. Reprod.*, 30: 707-720.
- TRUITT-GIBERT, A.J. & JOHNSON, L.A. (1980). The crater defect in boar spermatozoa: a correlative study with transmission electron microscopy, scanning electron microscopy and light microscopy. *Gamete Res.*, 3: 259-266.
- TULI, R.K.; SCHMIDT-BAULAIN, R. & HOLTZ, W. (1992). Computer-assisted motility assessment of spermatozoa from fresh and frozen-thawed semen of the bull, boar and goat. *Theriogenology*, 38: 487-490.
- TURNER, T.T. (1984). Resorption versus secretion in the rat epididymis. *J. Reprod. Fertl.*, 72: 509-514.
- VAN den SAFFELE, J.; VERMEULEN, L.; SCHOONJANS, F. & COMHAIRE, F.H. (1992). Evaluation of the hypo-osmotic swelling test in relation with advanced methods of semen analysis. *Andrologia*, 24: 213-217.
- VANTMAN, D.; KOUKOULIS, G.; DENNISON, L.; ZINAMAN, M. & SHERINS, R.J. (1988). Computer-assisted semen analysis: evaluation of method and assessment of the influence of sperm concentration on linear velocity determination. *Fertil. Steril.*, 49: 510.
- VÁZQUEZ, I.; MARTÍNEZ, F.; PIEDRABUENA, E. & DÍAZ, C. (1985). Efecto de la cafeína en la contrastación del semen de verraco conservado a + 5°C. *Rev. Asoc. Nac. Porcnocult. Cient. (Anaporc)*, 36: 32-35.

- VÁZQUEZ, J.M.; MARTÍNEZ, E.; ROCA, J.; COY, P. i RUIZ, S. (1992). Use of triple stain technique for simultaneous assessment of vitality and acrosomal status in boar spermatozoa. *Therogenology*, 38: 843-852.
- VÁZQUEZ, J.M.; MARTÍNEZ, E.; ROCA, J.; RUIZ, S. i CARRIZOSA, J.A. (1989). Identificación del estado del acrosoma y viabilidad de los espermatozoides de verraco por una técnica de triple tinción (TST). *IV Jornadas Internacionales de Reproducción Animal e Inseminación Artificial (León)*, p. 35.
- VENDRELY, E. (1981). Histology of the epididymis in the human adult. *Prog. Reprod. Biol.*, 8: 21-23.
- VIGIL, M.E.; GONZALO, A.C.; CIUDAD, C.C. i RUIZ-POVEDA, L.J. (1986). Variables ambientales que determinan la calidad seminal de un verraco. *Rev. Asoc. Nac. Porcinocult. Cient. (Anaporc)*, 49: 71-83.
- VIOTTO, M.J. i ORSI, A.M. (1989). Ultra-estrutura do tecido circundante do ducto epididimário do gato (*Felis domestica*, L.). *Ciência e Cultura*, 41: 1005-1008.
- VIOTTO, M.J.; ORSI, A.M.; MELLO DIAS, S.; FERNANDES, W.A. i CAMILLI, J.A. (1988). Histología regional do epidídimo do gato (*Felis domestica*, L.). *Ciência e Cultura*, 40: 1195-1199.
- VOGLMAYR, J.K.; MUSTO, N.A.; SAKSENA, S.K.; BROWN-WOODMAN, P.D.C.; MARLEY, P.B. i WHITE, I.G. (1977). Characteristics of semen collected from the cauda epididymidis of conscious rams. *J. Reprod. Fertl.*, 49: 245-251.
- WANG, Y.F. i HOLSTEIN, A.F. (1983). Intraepithelial lymphocytes and macrophages in the human epididymis. *Cell Tissue Res.*, 233: 517-521.
- WEISKE, W.H. i MALEIKA, F. (1990). Penetration and fertilization tests in vivo and in vitro. A: LUDWIG, G. i FRICK, J. (eds.), *Spermatology: Atlas and Manual*. Springer-Verlag, Berlin. Capt. 3, pp. 144-146.
- WEITZE, K.F. i PETZOLDT, R. (1992). Preservation of semen. *Anim. Reprod. Sci.*, 28: 229-235.
- WHITE, I.G.; LARSEN, L.H. i WALES, R.G. (1959). Method for the in vivo collection of epididymal spermatozoa and for their comparison with ejaculated cells. *Fertil. Steril.*, 10: 571-577.
- WIERZBOWSKI, S. i WIERZCHOS, E. (1969). Cannulation of the vas deferens in the boar. *J. Reprod. Fertl.*, 19: 173-175.
- WROBEL Von, K.H. i FALLENBACHER, E. (1974). Histologische and histochemische Untersuchungen am Nebenhodenepithel erwachsener Eber. *Zuchthyg.*, 9: 20-31.
- WU, A.S.H.; OLDFIELD, J.E.; SHULL, L.R. i CHEEKE, P.R. (1979). Specific effect of selenium on rat sperm. *Biol. Reprod.*, 20: 793-798.
- YEUNG, C.H.; COOPER, T.G.; BERGMANN, M. i SCHULZE, H. (1991). Organization of tubules in the human caput epididymidis and the ultrastructure of their epithella. *Am. J. Anat.*, 191: 261-279.
- YEUNG, C.H.; COOPER, T.G.; OBERPENNING, F.; SCHULZE, H. i NIESCHLAG, E. (1993). Changes in movement characteristics of human spermatozoa along the length of the epididymis. *Biol. Reprod.*, 49: 274-280.
- ZAINI, A.; JENNINGS, M.G. i BAKER, H.W.G. (1985). Are conventional sperm morphology and motility assessments of predictive value in subfertile men?. *Int. J. Androl.*, 8: 427-435.
- ZAMBONI, L. (1991). Physiology and pathophysiology of the human spermatozoon: the role of electron microscopy. *J. Elec. Microsc. Tech.*, 17: 412-436.
- ZAMBONI, L. (1992). Sperm structure and its relevance to infertility. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 116: 325-344.
- ZAMBONI, L. i STEFANINI, M. (1971). The fine structure of the neck of mammalian spermatozoa. *Anat. Rec.*, 169: 155-172.

- ZANEVELD, L.J.D. i POLAKOSKI, K.L. (1977). Collection and physical examination of the ejaculate. A: HAFEZ, E.S.E. (ed.), *Techniques of Human Andrology*. Elsevier, North-Holland Biomedical Press, Amsterdam. Capt. 6, pp. 147-172.
- ZIMMERMAN, K.J.; CRABO, B.G., MOORE, R.; WEISBERG, S.; DIEBEL, F.C. i GRAHAM, E.F. (1979). Movements of sodium and potassium into epididymal boar spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 21: 173-179.

