

ANNALĒŚ  
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA  
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXXIII, 6

SECTIO D

1978

I Klinika Ginekologii Operacyjnej. Instytut Położnictwa i Chorób Kobiecth.  
Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: doc. dr hab. n. med. Henryk Żrubeł  
Samodzielna Pracownia Mikroskopii Elektronowej. Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Maciej Latałski

Marian SEMCZUK

**Obraz mikroskopowo-elektronowy prawidłowego plemnika szczura białego**

Микроскопическо-электронная картина правильного сперматозоида белой крысы

An Electron Microscopic Picture of a Normal Spermatozoon in a White Rat

Wielu autorów prowadziło badania nad ultrastrukturą plemników zdrowych, płodnych mężczyzn, zwracając uwagę na szczegóły morfologiczne i ich rolę w procesie zapłodnienia (2, 3, 6, 13, 16). W dotychczasowym piśmiennictwie znacznie rzadziej spotykałem doniesienia opisów prawidłowej budowy submikroskopowej plemników zwierząt (1, 4, 7). Ze względu na duże walory hodowlane oraz niską cenę małe gryzonie — szczury stanowią podstawowy model zwierzęcia doświadczalnego. Jednak z uwagi na trudności w uzyskaniu nasienia od tych zwierząt niewiele badań przeprowadzono na tym materiale (4, 7). Obecne badania własne podjęto w celu prześledzenia struktury submikroskopowej prawidłowych plemników szczura białego. Jako kryterium oceny wartościowości nasienia przyjęto jego obraz morfologiczny.

**MATERIAŁ I METODY BADAŃ**

Badania przeprowadzono na 12 szczurach białych, samcach, szczepu Wistar, w wieku 3 miesięcy i początkowym ciężarze ciała 180—220 g. Przez 10 dni przed rozpoczęciem doświadczenia i przez cały czas jego trwania zwierzęta przebywały pojedynczo w klatkach, w jednakowych warunkach hodowlanych. Karmione były paszą granulowaną LSM, a do picia podawano im wodę w dowolnych ilościach. Po tym okresie metodą elektro ejakulacji, opisaną przez Scotta i Dziuk (15), w modyfikacji własnej (17), od wszystkich zwierząt pobierano nasienie do przepro-

wadzenia badania morfologicznego. Badanie powyższe miało posłużyć do oceny wartościowości nasienia badanych zwierząt i przydatności do dalszych badań. Po następnych 10 dniach, w czasie których zwierzęta przebywały w dotychczasowych warunkach, ponownie pobierano od nich nasienie do przeprowadzenia ponownego badania morfologicznego oraz oceny substruktury plemników w mikroskopie elektronowym. Ze względu na małe objętości otrzymywanych ejakulatów ocenę morfologiczną ograniczono do obliczenia liczby plemników w 1 mm<sup>3</sup> nasienia i odsetka form nieprawidłowych. Liczbę plemników w 1 mm<sup>3</sup> nasienia obliczano według wzoru:

$$\text{liczba plemników w 1 mm}^3 = \frac{X \cdot R \cdot 4\,000\,000}{256}$$

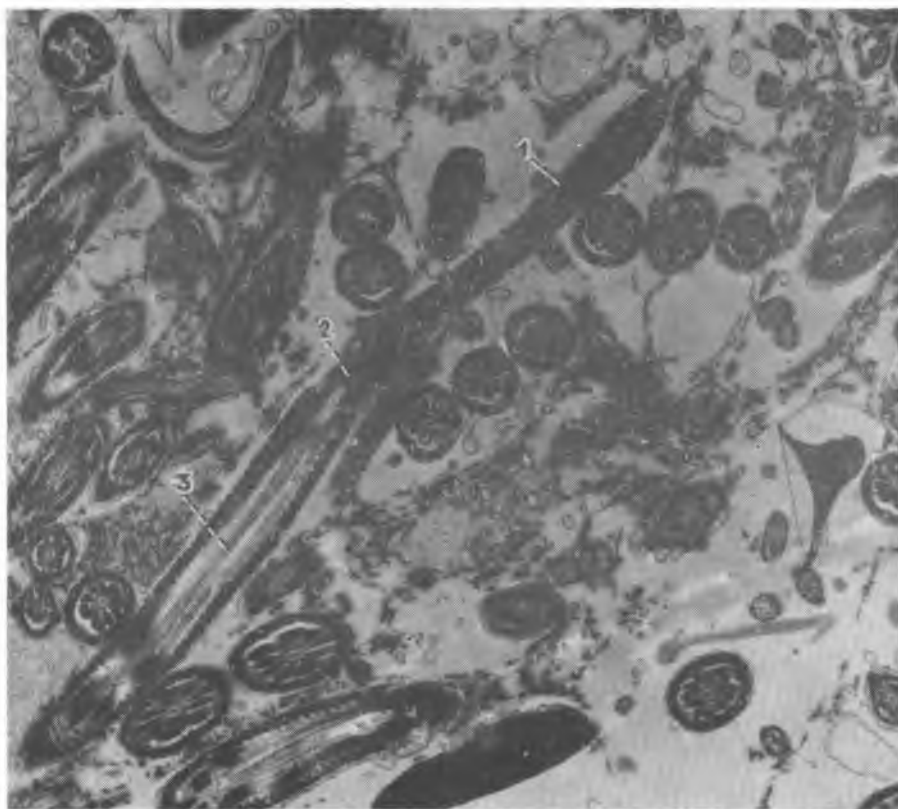
gdzie:  $X$  — liczba plemników obliczona w 256 małych kwadratach komory Thoma-Zeissa,  $R$  — rozcieńczenie. Celem pełniejszego zróżnicowania prawidłowych i patologicznych plemników wykonywano dodatkowo preparaty barwione hematoksyliną i eozyną (18).

Materiał do badań w mikroskopie elektronowym utrwalano w temp. 0°C do +4°C w 4% aldehydzie glutarowym zbuforowanym 0,1 M buforem kakodylowym do  $pH=7,2$  przez 1 godz. Następnie po przepłukaniu zimnym buforem dotrwalano również przez 1 godz. w tej samej temperaturze w 1% roztworze OsO<sub>4</sub> zbuforowanym także 0,1 M buforem kakodylowym do  $pH=7,2$ . W celu uzyskania osadu wirowano bardzo krótko, stosując 500 obrotów/min. Utrwalony materiał odwadniano w alkoholu etylowym i zatapiano w Eponie 812. Bloczki polimeryzowano w temp. 60°C przez 3 doby, po czym krojono na ultramikrotomie Tesla BS 490. Ultracienkie skrawki podbarwiano octanem uranylu i cytrynianem ołowiu, oglądano i fotografowano w mikroskopie elektronowym Tesla BS 613.

#### WYNIKI BADAŃ

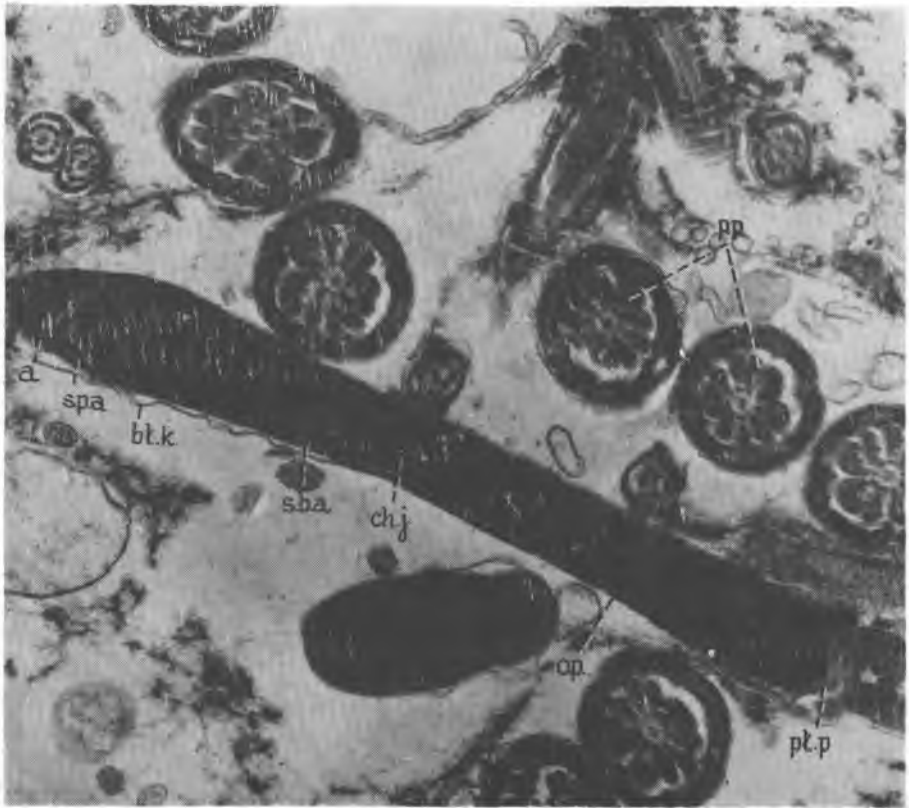
Liczba plemników w 1 mm<sup>3</sup> nasienia badanych zwierząt mieści się w granicach 16 500—706 700, a wartość średnia wynosi 192 860 ( $\pm 33\,550$ ). Wartości miar zmienności ( $S=156\,960$ ,  $V=81\%$ ) wskazują na znaczne wahania międzyosobnicze liczby plemników w 1 mm<sup>3</sup> nasienia (tab. 1). Liczba plemników o nieprawidłowym kształcie w nasieniu badanych zwierząt mieści się w granicach 6—11%, a wartość średnia wynosi 8,05% ( $\pm 0,31$ ), w tym nieprawidłowe formy główki plemnika stanowią 4,89% ( $\pm 0,21$ ), szyjki 1,68% ( $\pm 0,20$ ) i witki 1,47% ( $\pm 0,14$ ). Wartość miar zmienności ( $S=1,39$ ,  $V=17,3\%$ ) wskazują na niewielkie wahania międzyosobnicze procentowej zawartości plemników o nieprawidłowym kształcie w nasieniu obecnie badanych zwierząt (tab. 1).

Opisu ultrastruktury męskiej komórki rozrodczej dokonano uwzględniając jej podział na główkę, szyjkę i witkę (ryc. 1). Oddzielnie przeanalizowano strukturę submikroskopową włókna osiowego. Główka plemnika w ultracienkich skrawkach ma kształt pałeczki o nieznacznie pogrubiałych końcach (ryc. 1—3). Prawie całą objętość główki zajmuje jądro (ryc. 3, 4) o jednolicie elektronowo gęstej strukturze, wśród której spo-



Ryc. 1. Przekroje plemników szczura; 1 — główka, 2 — szyjka, 3 — witka. Pow.  
ok. 11 600×

Sections of normals rats spermatozoa; 1 — head, 2 — neck, 3 — tail. Magn.  $\times 11,600$



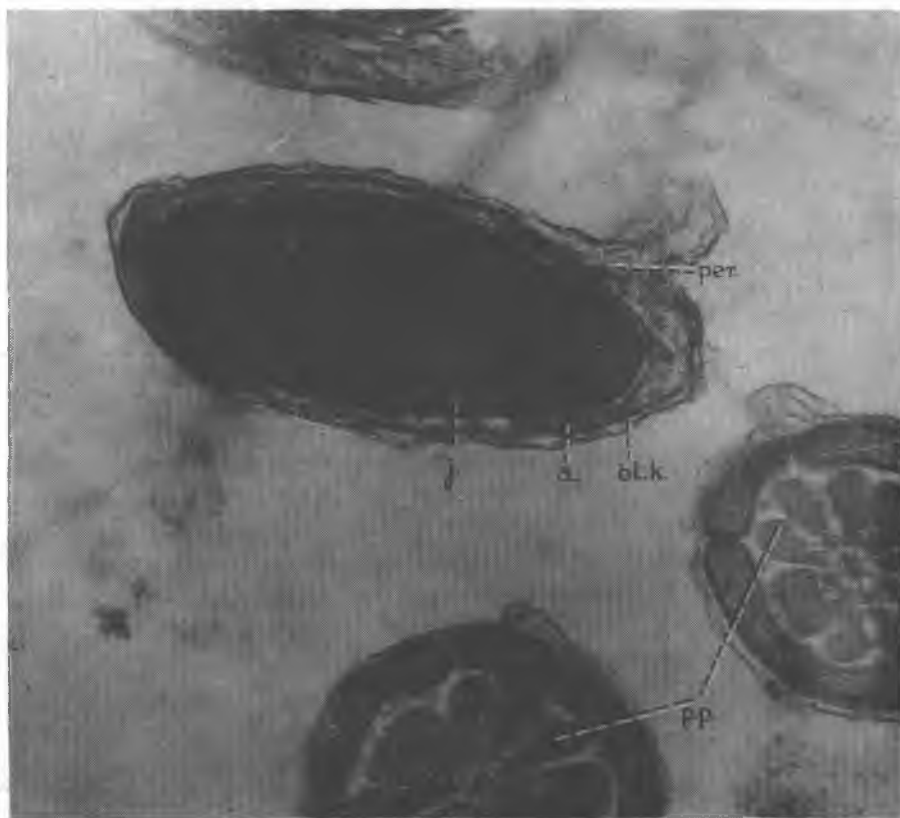
Ryc. 2. Fragment plemnika szczura z ryc. 1; a — akrosom, bł.k. — błona komórkowa, ch.j. — chromatyna jądrowa, o.p. — osłonka pozajądrowa, p.p. — przekroje poprzeczne plemników, pl.p. — płyta podstawowa, s.b.a. — segment brzeżny akrosomu, s.p.a. — segment przedni akrosomu. Pow. ok. 25 000 ×

A fragment of rat spermatozoon from fig. 1; a — acrosome, bł.k. — cellular membrane, ch.j. — nuclear chromatine, o.p. — post-nuclear sheath, p.p. — a transverse sections of spermatozoa, pl.p. — basal plate, s.b.a. — marginal acrosome segment, s.p.a. — anterior acrosome segment. Magn ×25,000



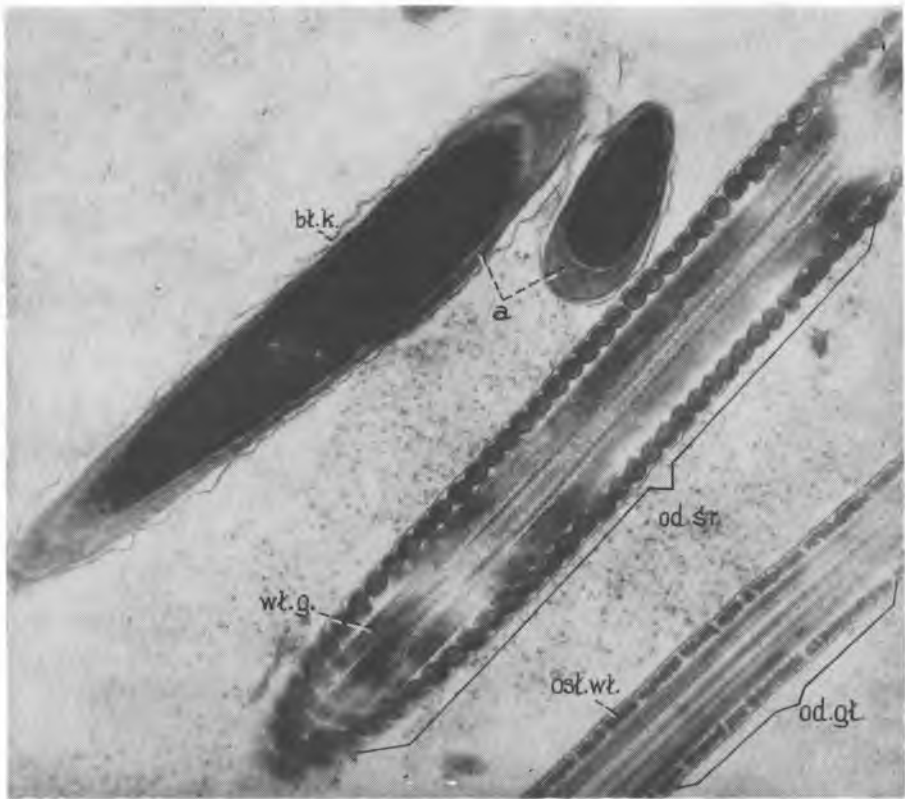
Ryc. 3. Przekrój plemnika szczura, a. — akrosom, bł.k. — błona komórkowa, j. — jądro, m. — mitochondria, per. — ciało szczytowe (perforatorium). Pow. ok. 25 000 ×

Section of the rat spermatozoon; a. — acrosome, bł.k. — cellular membrane, j. — nucleus, m. — mitochondria, per. — apical body (perforatorium). Magn. ×25,000



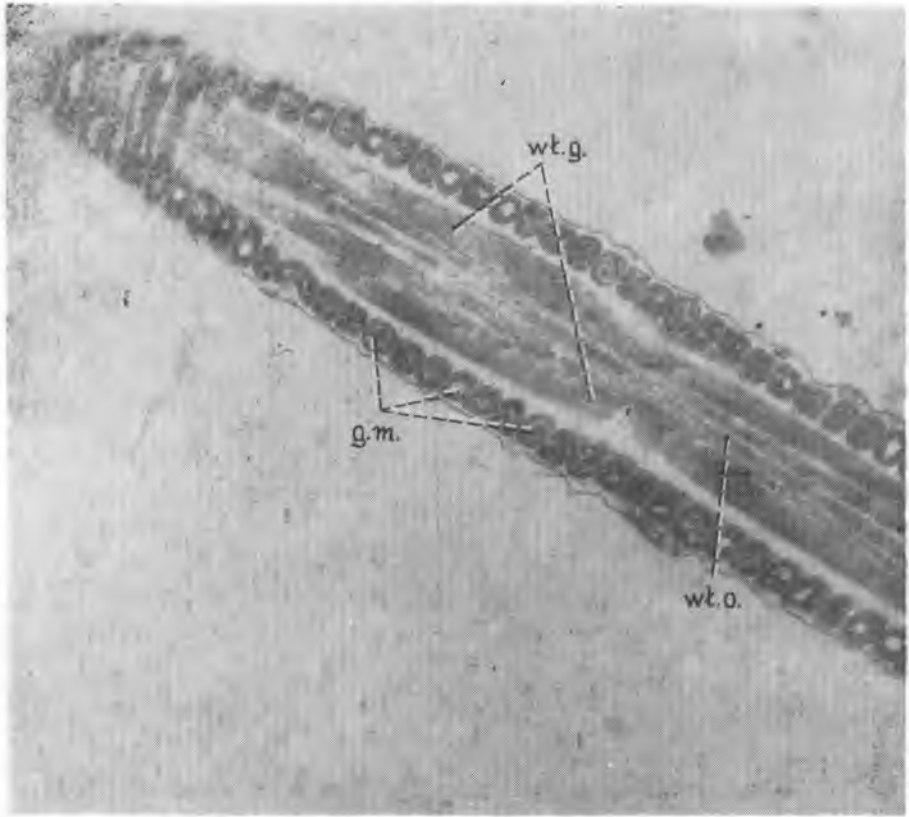
**Ryc. 4.** Przekroje plemników szczura; a. — akrosom, bł.k. — błona komórkowa, j. — jądro, per. — ciało szczytowe, p.p. — przekroje poprzeczne witki. Pow. ok. 82 000 ×

Sections of the rat spermatozoa; a. — acrosome, bł.k. — cellular membrane, j. — nucleus, per. — apical body, p.p. — a transverse sections of the tail. Magn. ×82,000



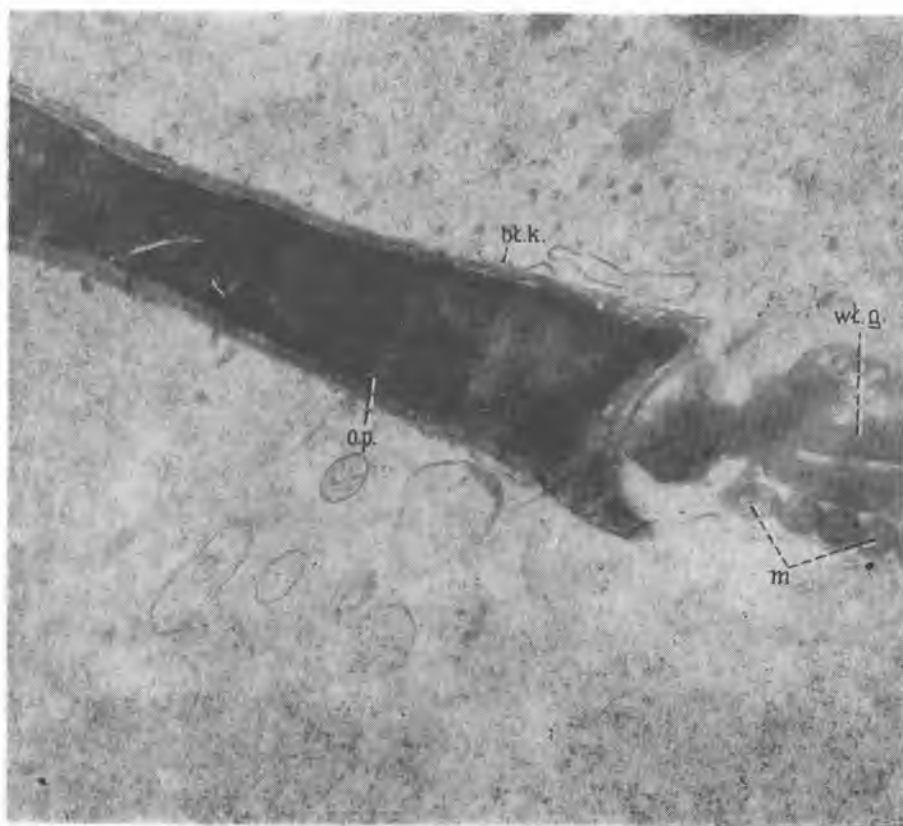
Ryc. 5. Plemniki szczura; a. — akrosom, bł.k. — błona komórkowa, m. — mitochondria, od.śr. — odcinek środkowy witki, od.pod. — odcinek podstawowy witki, osł.wł. — osłonka włóknista, per. — ciało szczytowe, wł.g. — włókna grube. Pow. ok. 25 000 ×

A rat spermatozoa; a. — acrosome, bł.k. — cellular membrane, m. — mitochondria, od.śr. — middle piece of tail, od.pod. — basal piece of tail, osł.wł. — fibrous sheath, per. — apical body, wł.g. — thick tail fibres. Magn. ×25,000

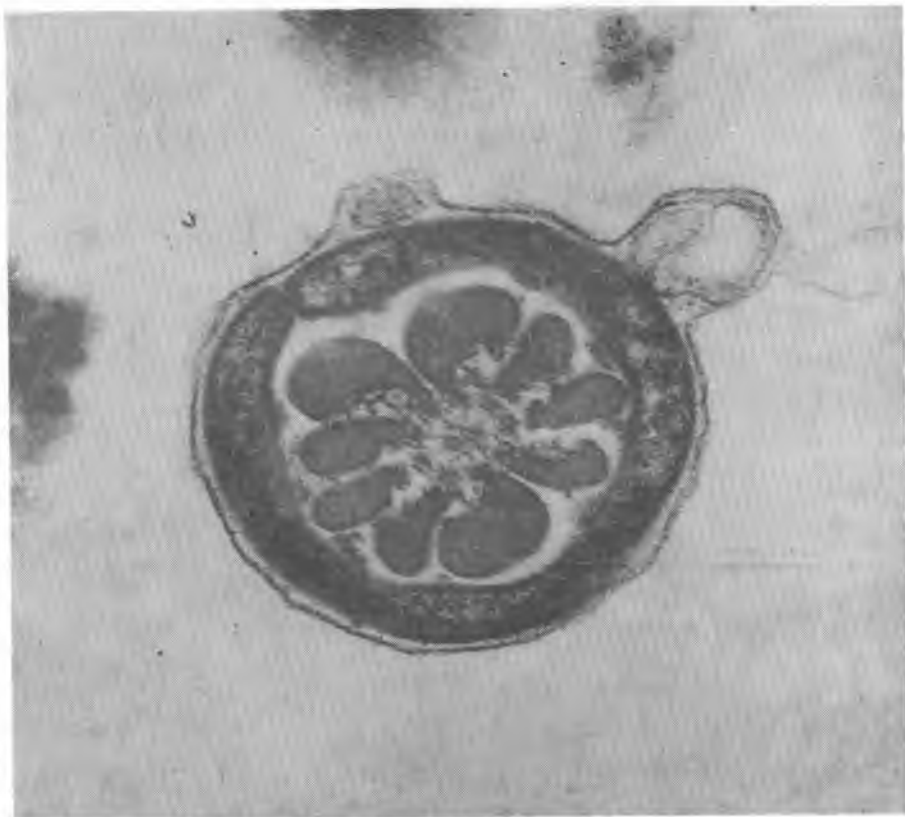


Ryc. 6. Przekrój podłużny witki plemnika szczura; g.m. — grzebień mitochondrialne, wł.o. — włókno osiowe, wł.g. — włókna grube witki. Pow. ok. 50 000×  
A longitudinal section of the rat spermatozoon tail; g.m. — mitochondrial combs, wł.os. — axial filament, wł.g. — thick tail fibres. Magn. ×50,000





Ryc. 7. Fragment plemnika szczura; bł.k. — błona komórkowa, m. — mitochondria, o.p. — osłonka pozajądrowa, wł.g. — włókna grube wityki. Pow. ok. 68 500 ×  
A fragment of the rat spermatozoon; bł.k. — cellular membrane, m. — mitochondria, o.p. — post-nuclear sheath, wł.g. — thick tail fibres. Magn. ×68,500



Ryc. 8. Przekrój poprzeczny plemnika szczura. Pow. ok. 115 000  $\times$   
A transverse section of the rat spermatozoon. Magn.  $\times$  115,000

Tab. 1. Cechy statystyczne liczby plemników w 1 mm<sup>3</sup> nasienia oraz procentowa zawartość plemników o nieprawidłowym kształcie w nasieniu badanych zwierząt  
 Number of spermatozoa in 1 ml of semen and percentage content of abnormal spermatozoa in semen of animals (statistical analysis)

Cechy statystyczne	Liczba plemników w 1 mm <sup>3</sup> nasienia	Procentowa zawartość plemników o nieprawidłowym kształcie
Zakres wartości	16 500—706 700	6—11
Wartość średnia ( $\bar{x}$ )	192 860( $\mp$ 33 500)	8,05( $\mp$ 0,31)
Odchylenie standardowe (S)	156 960	1,39
Współczynnik zmienności (V)	81%	17,3%

strzeżę się niekiedy pojedyncze wakuole (ryc. 1—4). Akrosom pokrywa 1/3 proksymalną część jądra. Składa się on z grubego segmentu szczytowego oraz cieńszego brzeżnego (ryc. 1—4). Pozostałe 2/3 jądra okrywa czapka pozajądrowa. Dystalną część jądra otacza dodatkowo koperta jądrodrowa. Na szczycie plemnika w pobliżu wierzchołka jądra, między wewnętrzną błoną akrosomu i błoną jądrową znajduje się niewielka organella o średniej gęstości elektronowej zwana ciałkiem szczytowym lub perforatorium (ryc. 3—5), której nie spotyka się w plemnikach ludzkich.

Szyjka plemnika znajduje się między podstawą jądra a spiralą mitochondrialną odcinka środkowego witki (ryc. 3, 4). Błona komórkowa otaczająca od zewnątrz główkę plemnika (ryc. 2—5, 7, 8) schodzi w dół, obejmując odcinek łączący, a następnie środkowy. W obrębie szyjki plemnika szczura wyróżnia się, podobnie jak w plemnikach człowieka, płytkę podstawową oraz centriole. W okolicy centrioli można niekiedy spotkać punktowe zakończenie grubych włókien witki. Niekiedy w przekrojach podłużnych widoczne są ciemne kolumny segmentowe w liczbie do 8.

Witka plemnika szczura składa się z odcinka środkowego, głównego i końcowego. Odcinek środkowy zawiera spiralę mitochondrialną, otaczającą w tym rejonie włókna kompleksu włókna osiowego witki (ryc. 1, 3, 5, 6, 8). Ilość cytoplazmy w tym odcinku komórki rozrodczej jest niewielka, gdyż błona komórkowa znajduje się zawsze blisko spirali mitochondrialnej (ryc. 3, 5—8). Główny odcinek witki jest bardziej elastyczny w przeciwieństwie do względnie sztywnej struktury odcinka środkowego. Ta część jest mechanicznie na ogół słaba i dlatego dość często ulega rozerwaniu i uszkodzeniu w procesie przygotowywania materiału do badania. Odcinek główny zawiera włóknistą otoczkę, zbudowaną z gęstego, względnie homogennego materiału, ułożonego w dwa podłużne pasma kolumn połączonych ze sobą półkuliście. Koniec witki otacza wyłącznie błona komórkowa.

Kompleks włókna osiowego składa się z 2 pojedynczych mikrokana-lików centralnych i 9 parzystych, obwodowych (ryc. 2, 8). W zależności od przekroju poprzecznego witki na różnych poziomach kompleks włókna osiowego otaczają różne elementy. Na przykład na wysokości odcinka środkowego akson otaczają, idąc od zewnątrz, błona komórkowa, spira-la mitochondrialna oraz 9 segmentów gęstych, grubych włókien (ryc. 6, 8). W dalszych odcinkach witki brak jest spirali mitochondrialnej, zani-kają na różnych poziomach włókna grube tak, że końcowy odcinek witki ma jedynie strukturę włókna osiowego.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

W obecnych badaniach przeanalizowano budowę submikroskopową plemnika szczura białego, uwzględniając jego podział na główkę, szyjkę i witkę. Chromatyna jądrowa dojrzałych plemników ssaków jest zwykle gęsta i jednolita (8, 13), niekiedy sprawia wrażenie substancji blaszkowa-tej (9). H o r s t m a n n (8) sugeruje, że w miarę dojrzewania plemników „ziarnistości” wzrastają do wielkości 650—700 Å, zaś K o e h l e r (9) i P e d e r s e n (11) stwierdzają mniejsze zagęszczenie chromatyny jądrowej w dojrzałych plemnikach z ejakulatu, wynoszące 300—400 Å. Nie-pełną kondensację chromatyny jądrowej można łączyć z nie ukończonym procesem dojrzewania plemnika (14).

W badaniach własnych dokonano dokładnej oceny budowy submikro-skopowej akrosomu, wyodrębniając dwa segmenty: szczytowy oraz brzeżny. Według P e d e r s e n a (13), akrosom plemnika ssaków ma, jak się wydaje, kruchą budowę, którą łatwo uszkadza procedura przygotowywa-nia nasienia do badań w mikroskopie elektronowym. Według niektórych badaczy obecność w obrębie główki plemnika wakuoli jest cechą stałą (1, 2, 5, 6, 13). C h r z a n o w s k i zaś podał, że wakuole można uważać za oznakę starzenia się plemników (3). Nie potwierdziły jednak tej sugestii późniejsze badania innych autorów (2, 13). Mitochondria plemników ssa-ków są ułożone na ogół regularnie i przylegają do siebie spłaszczonymi powierzchniami. Zawierają one grzebienie mitochondrialne i rozszerzone przestrzenie międzygrzebieniowe. Zawartość mitochondriów w plemnikach różnych gatunków jest na ogół jednolita (4, 13). Nie jest wyjaśnione do tej pory, jaką rolę spełniają poszczególne struktury mitochondriów plem-nika w procesie spermatogenezy (10). E l f v i n (4) wykazał, że zewnętrzna błona mitochondriów plemnika szczura, jak się wydaje, ma struktu-rę pięciowarstwową w przeciwieństwie do struktury błony wewnętrznej, która posiada budowę trójwarstwową, typową dla błon mitochondrial-nych. Powyższe spostrzeżenia wymagają dalszych badań i potwierdzenia na szerszym materiale.

Część autorów sugeruje, że główny odcinek witki ze względu na swoją kruchość i łamliwość często ulega uszkodzeniu podczas przygotowywania materiału do badań. Potwierdzają to również obecne spostrzeżenia własne, bowiem odcinek ten okazał się trudny do interpretacji. Podstawowy wzór kompleksu włókna osiowego (9+2) jest wspólny dla plemników wszystkich ssaków. Wielu badaczy przedstawiło dokładny opis włókna osiowego plemnika ze szczególnym uwzględnieniem jego roli w procesie ruchu komórki (6, 12). Szczególną rolę w przewodzeniu impulsów i aktywacji ruchu witki przypisuje się dwu głównym włóknom osiowym. Zespół spirali osiowej można rozpatrywać jako strukturę, którą mogą być przekazywane impulsy aktywujące ruch. U szczura w tej okolicy spotyka się podobne substruktury jak u człowieka (16). Chociaż obserwując wolne i sztywne ruchy plemnika szczura, którego włókna grube, otaczające włókno osiowe, są długie i cienkie, w przeciwieństwie do szybkich ruchów plemnika ludzkiego, którego wyżej wymienione włókna są grube i krótkie, można tym włóknom przypisywać właściwości kurczące. Badania nad substrukturą plemnika szczura białego są prowadzone nadal.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Anderson K.: *Acta vet. Scand.* **14**, 81—91, 1973.
2. Bedford J. M.: *Am. J. Anat.* **124**, 443—460, 1967.
3. Chrzanowski S.: *Gin. Pol.* **37**, 517—522, 1965.
4. Elfvin L. G.: *J. Ultrastruct. Res.* **24**, 259—266, 1968.
5. Fawcett D. M.: *Int. Rev. Cytol.* **7**, 195—234, 1958.
6. Fujita T., Miyoshi M., Tokunaga J.: *Z. Zellforsch.* **105**, 483—497, 1970.
7. Hadek R.: *Mammalian Fertilization. An Atlas of Ultrastructure* Acad. Press. N. Y., London 1969.
8. Horstmann E., Holstein A. F.: *Morphological Aspects of Andrology.* Gross-Verlag, Berlin 1970.
9. Koehler J. K.: *J. Ultrastructure Res.* **39**, 520—539, 1972.
10. Kretser D. M.: *Z. Zellforsch.* **98**, 477—505, 1969.
11. Pedersen H.: *Z. Zellforsch.* **94**, 542—554, 1969.
12. Pedersen H.: *J. Ultrastruct. Res.* **33**, 451—462, 1970.
13. Pedersen H.: *Danisch Med. Bull.*, **21**, 1—36, 1974.
14. Ross A., Christie S., Edmont P.: *J. Reprod. Fertil.* **32**, 243—251, 1973.
15. Scott J. V., Dziuk P. D.: *Anat. Rec.* **133**, 655—658, 1959.
16. Semczuk M.: *Z. mikroskop.-anat. Forsch.* (w druku — luty 1977).
17. Semczuk M., Żrubek H., Głazowski T.: *Acta Physiol. Polonica* **28**, 365—368, 1977.
18. Teter J.: *Zaburzenia hormonalne u mężczyzn.* PZWL, Warszawa 1964.

Otrzymano 5 IV 1977.

## РЕЗЮМЕ

Исследовали 12 трехмесячных крыс-самцов расы Вистар с начальным весом 180—230 г. Сперму получили методом электроэякуляции, который описали Скотт и Дзюк и с некоторыми собственными изменениями автора. У всех животных двоекратно морфологически исследовали сперму и оценили сперматозоиды в электронном микроскопе. В описании ультратруктуры мужской половой клетки крысы учтено деление на головку, шейку и жгутик. Отдельно проанализировали субструктуру осевоцилиндрического отростка.

## SUMMARY

12 white Wistar rats aging 3 months and weighing 180—220 g were studied. The semen was obtained by means of electroejaculation described by Scott and Dziuk after our modification. Morphological examination of semen and its electron microscopic evaluation were performed in all animals. The ultrastructure of the male reproductive cell was described with compliance to its division into head, neck and tail. The substructure of the axial fibre was separately analysed.