

## Morphologische Studien an abnormen Spermatiden und Spermatozoen des Menschen\*

Adolf-Friedrich Holstein

Abteilung für Mikroskopische Anatomie, Universität Hamburg

Eingegangen am 6. März 1975

### Morphological Studies on Abnormal Human Spermatids and Spermatozoa

*Summary.* Malformed spermatids and spermatozoa in the testes, epididymes, and ejaculates of 29 apparently healthy men and in 171 patients suffering from different andrological diseases were investigated with the electron microscope. The following types of malformations are described:

1) Malformations of the acrosome in contact with the nucleus of the spermatid: Vesicular inclusions in the acrosome vesicle, asymmetric thickenings of the acrosome cap, enfolding of the acrosomal lamina into the spermatid's nucleus, partial separation of the acrosome from the nucleus, apical knob-like thickenings of the acrosome.

2) Malformations of the acrosome independent from the spermatid's nucleus: the acrosomal material is contained in small vesicles, large vacuoles, in ring-like structures, in globular or shell-like laminar structures. The nucleus of such spermatids lacks an acrosome.

3) Malformations of the nucleus: inclusions of vesicles or membranes, excessive packages of membranes, gigantic nuclear vacuoles, lack of condensation of the caryoplasm.

4) Multinucleate spermatids: two or more nuclei within the pericaryon of one spermatid are joined by an acrosome.

5) Duplicate acrosomeanlagen.

6) Malformations of the tail: disorganization of the axonema, a lack or excessive numbers of tubules and fibres, doublets of the axial filaments, destruction of the neck region, a lack of the mitochondrial sheath, and enlargement of the fibrous sheath.

Malformed germ cells were observed to occur in varying amounts both in apparently healthy men and in those who were apparently infertile. This indicates that germ cell malformations are no absolute indicator of male infertility. However, certain distinct types of malformations (such as round-headed spermatozoa) are definitely associated with infertility, but only if all spermatozoa in the ejaculate of a patient have the same defect.

*Key words:* Spermatids — Spermatozoa — Spermatogenesis — Malformed Germ Cells — Electron Microscopy.

*Zusammenfassung.* Fehlgebildete Spermatiden und Spermatozoen in den Hoden, Nebenhoden und Ejaculaten von 29 gesunden Männern und von 171 Patienten mit verschiedenen andrologischen Erkrankungen wurden elektronenmikroskopisch untersucht. Die folgenden Mißbildungstypen lassen sich beschreiben:

1. Akrosomfehlbildungen in Kontakt zum Spermatidenkern: bläschenförmige Einschlüsse in der Akrosomblase, asymmetrische Verdickungen der Akrosomkappe, Einfaltungen der akrosomalen Lamina in den Spermatidenkern, teilweise Abhebung des Akrosoms vom Kern, apikale knopfartige Verdickungen des Akrosoms.

2. Akrosomfehlbildungen unabhängig vom Spermatidenkern: das akrosomale Material ist enthalten in kleinen Bläschen, ringförmigen Strukturen, in rundlichen oder schalenartigen Formen. Der Kern solcher Spermatiden hat kein Akrosom.

3. Fehlbildungen des Kerns: Einschlüsse von Bläschen oder Membranen, ausgedehnte Membranbildungen, sehr große Kernvacuolen, fehlende Kondensation des Karyoplasma.

\* Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. h. c. Carl Krauspe mit herzlichen Glückwünschen zum 80. Geburtstag gewidmet.

4. Mehrkernige Spermatiden: zwei oder mehr Kerne in einem Perikaryon sind durch ein Akrosom verbunden.

5. Doppelte Akrosomanlagen.

6. Fehlbildungen des Schwanzes: Zerstörung des Axonema, Unterdrückung oder Überzahl von Tubuli und Fasern, doppelte axiale Filamentenbündel, Destruktion der Halsregion, Fehlen der Mitochondrienscheide, Auftreibung der Faserscheide.

Mißgebildete Keimzellen treten in unterschiedlichen Prozentsätzen sowohl bei gesunden Männern als auch bei infertilen Patienten auf. Damit ist das Vorkommen fehlgebildeter Keimzellen nicht unbedingt ein Hinweis auf eine bestehende Infertilität. Nur bei bestimmten Mißbildungstypen, wie den rundköpfigen Spermatozoen, ist — wenn alle Spermatozoen im Ejaculat den gleichen Defekt aufweisen — mit Infertilität zu rechnen.

### Einleitung

In der letzten Phase der Spermatogenese können bei den Spermatiden Fehlbildungen des Akrosoms, des Kerns oder der Geißel auftreten, die zur Entwicklung abnormer Spermatozoen führen. Nur schwerste Mißbildungen, wie deformierte oder abgebrochene Spermatozoenköpfe, Doppelköpfe oder Doppelschwänze, aufgeknauelte Schwänze, etc. lassen sich bereits im Lichtmikroskop feststellen und sind Grundlage für die in der Literatur bekannten Zusammenstellungen pathologischer Spermatozoen (z.B. Hotchkiss, 1944; Macleod, 1964, 1967; Williams, 1960; Joel, 1971).

Die ultrastrukturelle Untersuchung von abnormen Spermatozoen und die Analyse ihrer Morphogenese erweitert nicht nur unsere Kenntnis pathologischer Samenzellformen, sondern erleichtert auch das Verständnis der normalen Spermatidendifferenzierung. Abnorme Spermatiden und Spermatozoen des Menschen sind in Einzelbeobachtungen bereits von mehreren Autoren beschrieben worden (Fujita, Miyoshi, Tokunaga, 1970; Schirren, Holstein, Schirren, 1971; Ross, Christie, Kerr, 1971; Pedersen, Rebbe, Hammen, 1971; Holstein, Schirren, Schirren, 1973; Ross, Christie, Edmond, 1973; Bedford, Calvin, Cooper, 1973; Pedersen, Rebbe, 1974; Holstein, Mauß, 1975). Eine systematische Übersicht liegt noch nicht vor. Die große Zahl der möglichen Fehlbildungen auch einzelner Bestandteile der Samenzellen erscheint verwirrend. Bei zahlreichen geringfügigen Abweichungen von der in der Literatur dargestellten normalen Spermatidenentwicklung (Horstmann, 1961; De Kretser, 1969), und normalen Spermatozoenform (s. Pedersen, 1974) ist es zudem unklar, ob es sich noch um normale fertile Spermatozoen mit einer gewissen Variation einzelner Strukturen oder bereits um pathologische, infertile Spermatozoen handelt.

In der vorliegenden Arbeit soll versucht werden, die im Kastrationsmaterial, Hodenbiopsiematerial und Ejaculat von gesunden Männern und von Patienten mit gestörter Fertilität beobachteten Fehlbildungen an Spermatiden und Spermatozoen zu analysieren und grundsätzliche Mißbildungsformen herauszustellen.

### Material und Methoden

Zur Verfügung standen für licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen 1. Kastrationsmaterial (Hoden und Nebenhoden von 29 anscheinend gesunden Männern im Alter von 22—78 Jahren) (s. Baumgarten, Holstein, Rosengren, 1971), 2. Biopsiematerial von 128 Männern im Alter von 19—56 Jahren, die wegen Oligozoospermie, Teratozoospermie, Azoospermie und anderer andrologischer Krankheiten untersucht wurden, 3. Biopsiematerial

von 43 Männern im Alter von 18—42 Jahren, bei denen wegen Tumorverdacht Hodengewebe entnommen wurde, 4. zahlreiche Ejaculatproben von diesen Männern<sup>1</sup>.

Das Hoden- und Nebenhodengewebe wurde unmittelbar nach der Entnahme in 6%igem eisgekühltem Glutaraldehyd in 0,05 m Phosphat-Puffer, pH 7,2 über 30 min vorfixiert und anschließend in phosphatgepufferter (0,1 m)  $\text{OsO}_4$ -Lösung (1%), unter Zusatz von 0,1 m Sucrose bei 4—8° C über 2½ Std nachfixiert. Die Entwässerung und Einbettung der Gewebestücke in Epon 812 erfolgte nach den Angaben von Luft (1961). Semidünnschnitte und Ultradünnschnitte wurden mit einem Reichert-Ultramikrotom OmU2 unter Benutzung von Glas- und Diamantmessern angefertigt. Die Semidünnschnitte wurden mit Toluidinblau/Pyronin gefärbt (Ito u. Winchester, 1963). Die Ultradünnschnitte wurden mit Bleicitrat nachkontrastiert (Reynolds, 1963; Venable, Coggeshall, 1965) und im Philips EM 300 mikroskopierte.

Zahlreiche Gewebeproben wurden in auswärtigen Krankenhäusern entnommen. Abweichend von den obigen Angaben wurde in diesen Fällen das Material in 6%igem eisgekühltem Glutaraldehyd in 0,05 m Phosphat-Puffer pH 7,2, bis zu maximal 2 Tagen während des Versandes per Post belassen. Die Gewebestücke wurden in kleinen Plastikflaschen (Tri-Carb-Röhrchen, Packard, Frankfurt) in einem Styroporgefäß verschickt. Nach Ankunft des Biopsiematerials im Anatomischen Institut wurde das Gewebe dann in oben beschriebener Weise nachfixiert, entwässert und in Kunststoff eingebettet.

Von den Ejaculaten wurden 20 min nach Gewinnung jeweils 1—2 Tropfen in ein Zentrifugenröhrchen mit 10 ml PAF-Fixierungsgemisch (Stefanini, Demartino, Zamboni, 1967) gegeben, nach 30 min über eine Zeitdauer von 2 Std in einem 1%igen  $\text{OsO}_4$ -Phosphatpuffer-Sucrosegemisch (s. oben) fixiert und mehrfach während der Fixierung und der anschließenden Entwässerung bei 4500 U/min über 20 min zentrifugiert.

## Befunde

Abnorme Spermatozoen zeigen entweder isolierte Fehlbildungen einzelner Zellbestandteile, wie des Akrosoms, des Kerns, des Schwanzes oder Kombinationen derselben.

### *Abnorme Akrosombildung*

Das Akrosom wird vom Golgiapparat der Spermatiden gebildet. Bei der frühen Spermatide erscheint zuerst eine Akrosomblase, die sich entweder wie im Normalfall an den Spermatidenkern anlagert, — oder aber unabhängig vom Spermatidenkern im Cytoplasma weiterentwickelt.

*Akrosomfehlbildungen in Kontakt zum Spermatidenkern.* Bei den frühen runden Spermatiden (Abb. 1) können im Kastrationsmaterial und Biopsiematerial sowohl von gesunden Männern als auch bei Patienten mit unterschiedlichen andrologischen Krankheiten Störungen bei der Entwicklung der Akrosomblase gefunden werden: 1. Der Akrosomblase liegen intranucleäre zusätzliche Vesikel dicht an. 2. Mehrere kleine Akrosomblasen fließen nicht zu einer größeren Blase zusammen und weisen auch keine elektronendichte akrosomale Substanz auf. 3. Die Akrosomblase enthält zwar elektronendichte Substanz, zusätzlich aber weitere Vesikel und membranumschlossene elektronendichte Partikel. 4. Das bereits kappenförmig über dem Spermatidenkern ausgebreitete Akrosombläschen schließt neben der elektronendichten Substanz Vesikel ein. 5. Das kappenförmige Akrosom-

1 Für die freundliche Unterstützung bei der Beschaffung des Materials danke ich den Herren Prof. Dr. Diebold, Chirurg. Klinik, Allg. Krankenhaus St. Georg, Hamburg, Prof. Dr. Klosterhaffen, Urolog. Klinik der Universität Hamburg, Priv.-Doz. Dr. Körner, Abt. für Urologie, Bundeswehrkrankenhaus Wandsbek, Hamburg, Med.-Dir. Dr. Mairose, Zentralkrankenhaus der Justizbehörde, Hamburg, Priv.-Doz. Dr. Mauß, Evang. Krankenhaus Düsseldorf, Prof. Dr. Schirren, Abt. für Andrologie, Universitäts-Hautklinik, Hamburg.

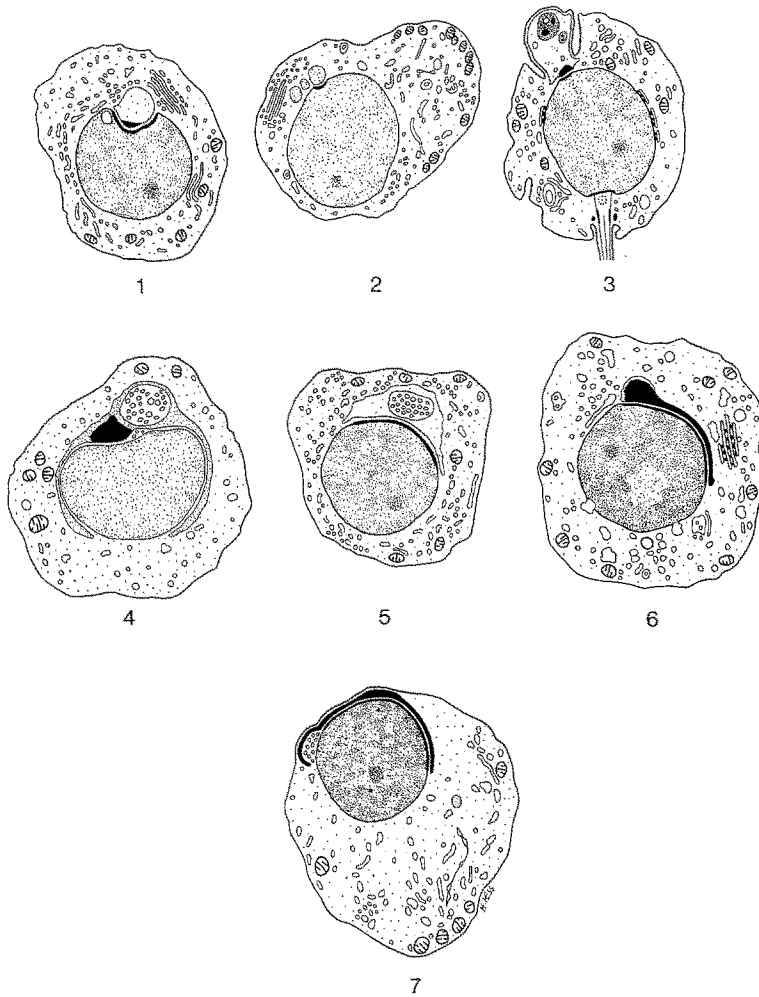


Abb. 1. Akrosommißbildungen in Kontakt zum Kern bei frühen Spermatiden. Hodenbiopsiematerial. Einzelheiten siehe Text! Halbschematische Zeichnung nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen. Vergr. ca. 4000fach

bläschen besitzt keine elektronendichte Substanz, sondern nur membrangebundene Vesikelansammlungen. 6. Die elektronendichte akrosomale Substanz füllt die kappenförmige Akrosomblase aus, zeigt dabei aber einseitige Verdickungen. 7. Das kappenförmige Akrosom umschließt neben dem Spermatidenkern gelegene Vesikel.

Bei den späteren Spermatiden, deren Kerne bereits gestreckt und kondensiert sind (Abb. 2), lassen sich ebenfalls bei gesunden und kranken Männern zahlreiche Akrosomfehlbildungen feststellen: 1. Das kappenförmige Akrosom bedeckt nur einen relativ kleinen Teil des Spermatidenkerns und ist zum Teil erheblich verdickt. 2. Das Akrosom ist in den Kern eingefaltet. 3. Eine Akrosomeinfaltung

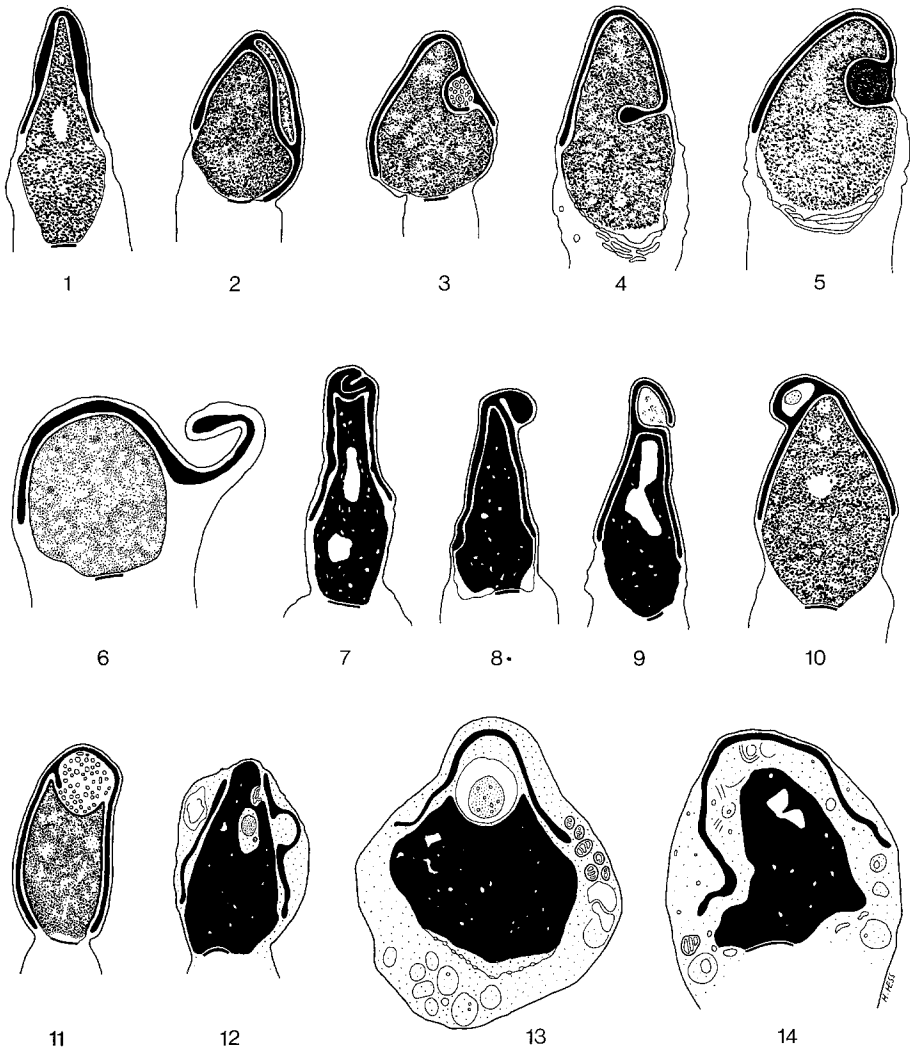


Abb. 2. Akrosommißbildungen bei gestreckten Spermatidenkernen mit unterschiedlichem Kondensationszustand ihres Karyoplasma. Einzelheiten siehe Text! Die Schwanzstrukturen der Spermatiden sind in den Zeichnungen nicht berücksichtigt. Halbschematische Zeichnung nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen. Vergr. ca. 6000fach

in den Kern kann zusätzlich Bläschen umschließen. 4. Eine Akrosomeinfaltung reicht tief in den Kern hinein. 5. Das teilweise in den Kern eingestülpte Akrosom bildet eine knopfartige Verdickung. 6. Das Akrosom ist an einem Rand vom Spermatidenkern abgehoben und nach außen umgekrempft. 7. Das Akrosom zeigt eine apikale Verdickung und Einstülpung in den Kern. 8. Eine knopfartige Verdickung am kranialen Rand des Akrosoms enthält eine relativ große Masse akrosomaler Substanz. 9. Eine apikale abgehobene Leiste des Akrosoms erweckt an Schnittbildern den Eindruck eines hakenförmigen Fortsatzes. 10. Intraakro-

somale Zysten können weitere Vesikel oder andere Partikel enthalten. 11. Das Akrosom umschließt neben dem Spermatidenkern Vesikelansammlungen. 12. Das Akrosom hat einen apikalen Defekt und bedeckt an dieser Stelle nicht den Spermatidenkern. 13. Zwischen Akrosom und Kern sind große Zysten eingelagert. 14. Das Akrosom ist weitgehend vom Kern abgehoben.

Diese Akrosomfehlbildungen kommen in unterschiedlicher Häufigkeit bei gesunden und kranken Männern vor, ein bevorzugtes Auftreten einer Fehlbildung war an dem untersuchten Material nicht festzustellen. Eine Zuordnung einer bestimmten Fehlbildung zu einem bestimmten andrologischen Krankheitsbild war ebenfalls nicht möglich.

*Akrosomfehlbildungen unabhängig vom Spermatidenkern.* Akrosomanlagen, die keinen Kontakt zum Spermatidenkern gewinnen, können ebenfalls bei gesunden und kranken Männern beobachtet werden. Es gibt jedoch auch Patienten, bei denen in allen Spermatiden das Akrosom unabhängig vom Kern gebildet wird (s. Schirren, Holstein, Schirren, 1971). Nur bei den frühen rundkernigen Spermatisiden ist diese Fehlbildung analysierbar, denn die reifen Spermatisiden verlieren beim Verlassen des Keimepithels das Akrosom und erscheinen im Ejaculat als rundkernige, akrosomlose Spermatozoen. Folgende charakteristische Formen können beobachtet werden (Abb. 3): 1. Das Akrosombläschen lagert sich nicht an den Spermatidenkern an, die elektronendichte akrosomale Substanz ist vom Kern abgewendet. 2. Das Akrosombläschen liegt im Zytoplasma und enthält kleine Vesikel. 3. Der Golgiapparat hat einen ringförmigen Spaltraum gebildet, in dem nur wenig elektronendichte, akrosomale Substanz enthalten ist. 4. Das Akrosombläschen mit elektronendichter Substanz zeigt auf Schnittbildern ringförmige Figuren. 5. Das Akrosombläschen ist mit elektronendichter Masse angefüllt und stellt einen runden Körper dar. 6. Das Akrosombläschen enthält Vesikel und andere elektronendichte Partikel. 7. Ein kleines kappenförmiges Akrosom umschließt Bläschen des endoplasmatischen Reticulum. 8. Das Akrosom imponiert als weit vom Kern abgehobene Lamelle mit Zystenbildung. 9. Schalenartige Akrosomanteile liegen weit entfernt vom Spermatidenkern im Zytoplasma. 10. Die reife Spermatiside besitzt kein Akrosom, der kondensierte Kern bleibt rund. 11. Gelegentlich trifft man langgestreckte Spermatisiden, bei denen die Kernkondensation und Schwanzbildung normal zu sein scheinen, das Akrosom jedoch weit entfernt vom Kern in fast typischer normaler Form auftritt.

#### *Doppel- und mehrkernige Spermatisiden*

Bei doppel- oder mehrkernigen Spermatisiden nimmt das Akrosom meistens eine Mittelstellung zwischen den Kernen ein und verklebt sie miteinander (Abb. 4). Am häufigsten treten doppelkernige Spermatisiden auf, sie sind regelmäßig im Hoden und im Ejaculat bei gesunden Männern zu finden. Bei einem Patienten konnte festgestellt werden, daß alle Spermatisiden doppel- oder mehrkernig waren (Holstein, Mauß, 1975). Folgende charakteristische Mißbildungen sind herauszustellen: 1. Zwei Spermatisidenkerne werden von einem Akrosombläschen verbunden, es enthält nicht nur elektronendichte akrosomale Substanz, sondern zusätzlich Vesikeleinschlüsse. 2. Die elektronendichte Substanz füllt das ganze Akrosombläschen aus, Vesikeleinschlüsse bleiben ausgespart. 3. Ein T-förmiges

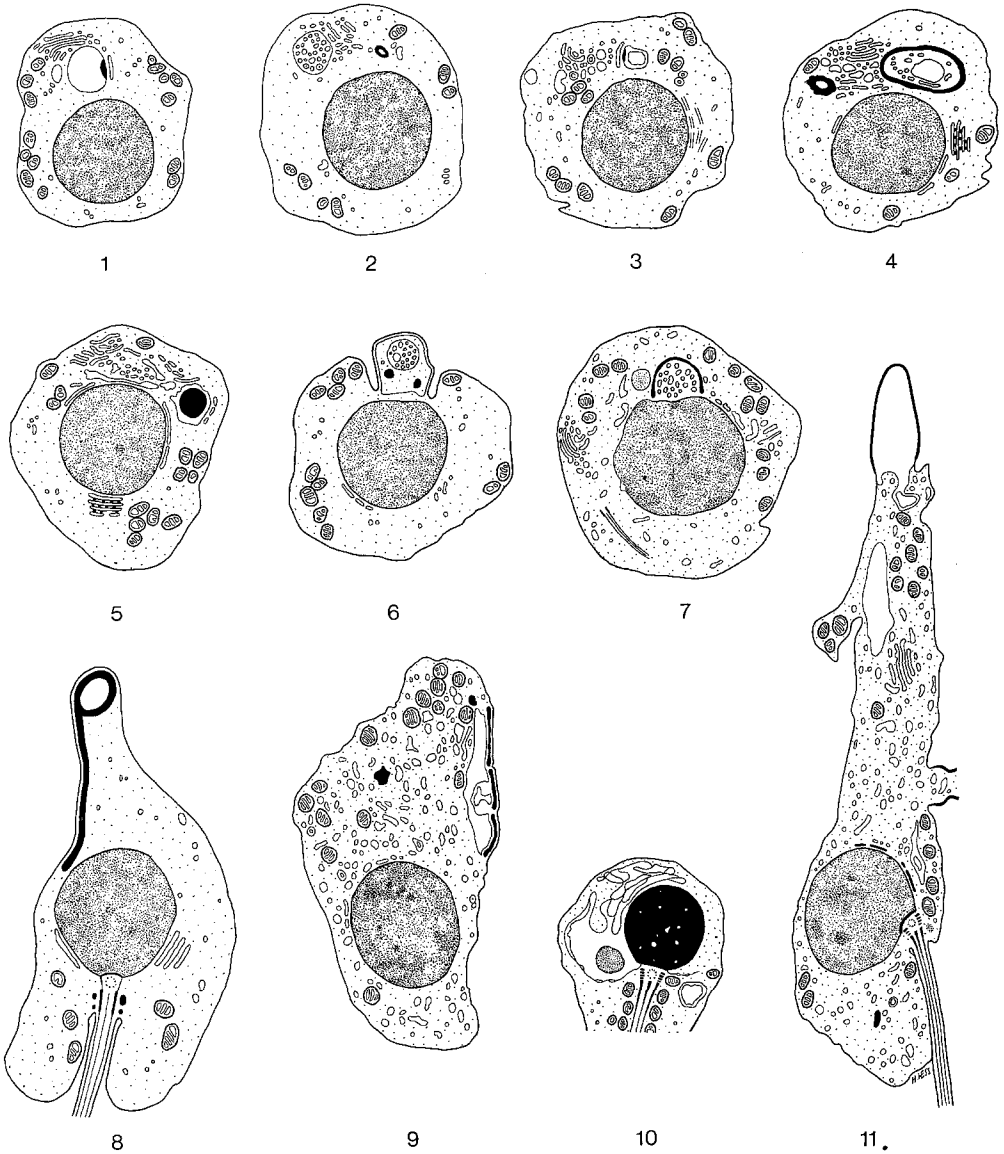


Abb. 3. Akrosommißbildungen unabhängig vom Spermatidenkern. Einzelheiten siehe Text! Halbschematische Zeichnung nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen. Vergr. ca. 4000fach

Akrosom verbindet zwei Spermatidenkerne mit stärker kondensiertem Karyoplasma. 4. Eine Akrosomblase verbindet drei oder mehr Spermatidenkerne miteinander. 5. Jeweils zwei Spermatidenkerne in einem Zelleib werden von einem Akrosom zusammengeklebt. 6. Ein bizarr geformtes Akrosom mit Vesikeleinschlüssen und Zysten liegt zwischen mehreren Spermatidenkernen.

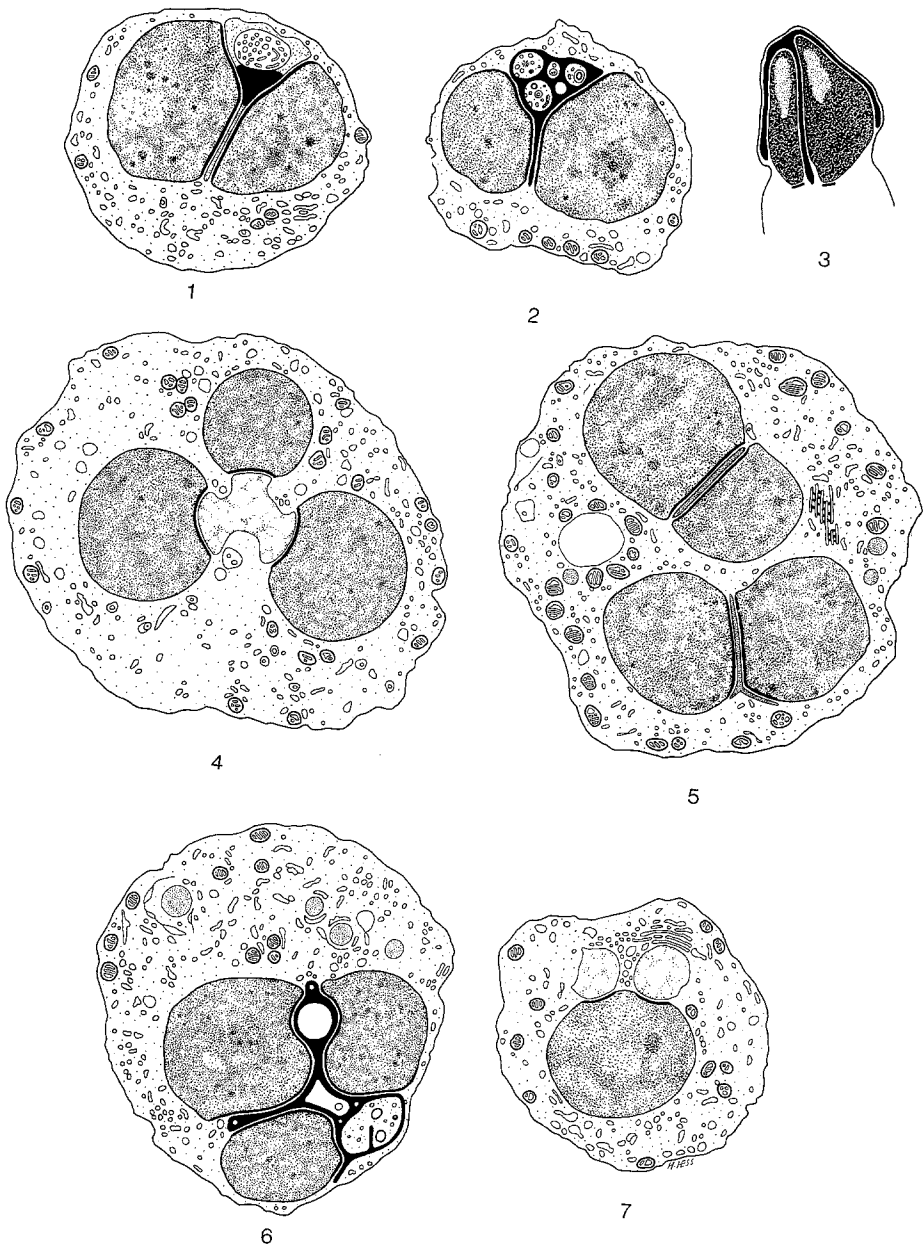


Abb. 4. Mehrkernige Spermatiden (1—6), die durch deformierte Akrosome verbunden werden. 7 Spermatide mit 2 Akrosomanlagen. Zeichnung nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen. Vergr. ca. 4000fach

#### *Doppelte Akrosomanlagen*

Relativ selten trifft man im Keimepithel Spermatidenkerne, denen sich zwei Akrosomblasen angelagert haben (Abb. 4, 7). Elektronendichte Substanz wird sehr spärlich in diesen Akrosomblasen gebildet. Die Zellen zeigen meistens eine



starke Vacuolisierung des Zytoplasma und verdichtete Mitochondrien. Im Nebenhoden und Ejaculat konnten diese mißgebildeten Zellen bisher noch nicht nachgewiesen werden.

### *Mißbildungen des Spermatidenkerns*

Mißbildungen des Kerns sind oft mit Mißbildungen des Akrosoms vergesellschaftet, können aber auch isoliert auftreten. Am häufigsten findet man membranöse Einschlüsse im Karyoplasma, verstärkte Membranbildungen der Kernhüllen oder Vacuolen. In einem Fall konnte aber auch ein Ausbleiben der Kernkondensation festgestellt werden (Holstein, Mauß, 1975). Die häufigsten wiederkehrenden Formen sind in Abb. 5 zusammengefaßt: 1. Das Karyoplasma enthält membranöse Einschlüsse und das Akrosom zeigt Zystenbildungen. 2. Durch intranucleäre Membranen und Vesikeleinschlüsse ist das zystisch veränderte Akrosom vom Karyoplasma teilweise abgehoben. 3. Ein Spermatidenkern mit Vesikeleinschlüssen wird von einem partiell verdickten Akrosom bedeckt, in Kernvacuolen liegen Vesikel. 5. Subakrosomale Vesikeleinschlüsse treten neben übermäßig entwickelten postakrosomalen Membranen auf. 6. Ein großes Membranpaket geht von der postakrosomalen Kernmembran aus. 7. Große Einschlüsse von konzentrisch geschichteten Membranen liegen im Karyoplasma. 8. Ein übergroßer intranucleärer Membraneinschluß hat den Kern deformiert und das Akrosom abgehoben. 9. In den Kern sind Tubuli eingeschlossen. 10. Sehr große Kernvacuolen bei wenig Karyoplasma deuten auf veränderte Zusammensetzung des Kerninhaltes hin. 11., 12., 13. Eine typische Störung der Kernentwicklung der Spermatiden zeigt sich darin, daß die sonst normalerweise im Elektronenmikroskop sichtbare Verdichtung des Karyoplasma ausbleibt. Es gibt übermäßige Membranformationen der postakrosomalen Kernmembran. Diese Spermatiden zeigen während einer bestimmten Phase der Differenzierung eine Eindellung der Akrosomkappe (Abb. 5, 12).

### *Mißbildungen des Spermatidenschwanzes*

Mißbildungen des Schwanzes sind auch bei fertilen Männern überaus zahlreich. Soweit die bisherige Kenntnis von der Entwicklung des Spermatozoenschwanzes (De Kretser, 1969) eine Beurteilung zuläßt, sind folgende Möglichkeiten der Mißbildungen der einzelnen Schwanzabschnitte, z.B. der Halsregion, des Mittelstücks und des Hauptstücks zu unterscheiden: 1. Der Spermatozoenschwanz kann vom Kern abscheren. Dabei erfolgt die Abtrennung des Kopfes meistens im Bereich des Karyoplasma, die Basalplatte verbleibt an den Schwanzstrukturen (Abb. 10). 2. Der Schwanz umwindet ein bis zweimal den Kern (z.B. bei den akrosomlosen, rundkernigen Spermatozoen), bevor er frei aus der Zelle hervorgeht. Schwänze mit Schleifenbildung sind oft hinsichtlich der Morphologie der Substrukturen unauffällig. 3. Das Axonema ist distal der Halsregion aufgetrieben und die Tubulusstrukturen sind verselbständigt (Abb. 6a). 4. Die Mitochondrienscheide des Mittelstücks fehlt (Abb. 6b). Der Annulus ist in der Nähe des distalen Zentriols liegengeblieben und hat keinen „Descensus“ durchgemacht. Der spindelförmige Körper (De Kretser, 1969; Wartenberg u. Holstein, 1975) gibt ungefähr die Stelle an, wo der Übergang zwischen Mittel- und Hauptstück zu erwarten wäre. Das Fehlen der Mitochondrienscheide des Mittelstücks tritt

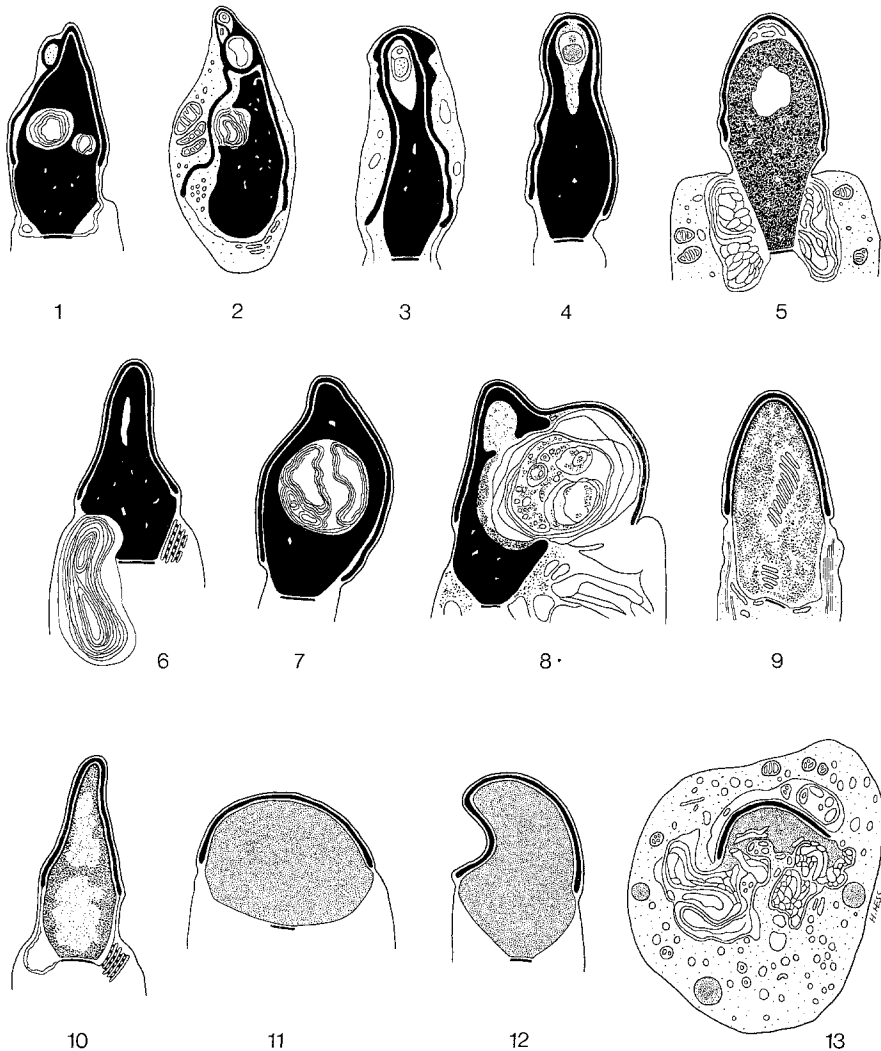


Abb. 5. Mißbildungen des Spermatidenkerns. 1—9 Intranucleäre Membraneinschlüsse, teilweise liegen gleichzeitig Akrosommißbildungen vor (1—3), 10 sehr große Kernvacuolen, 11—13 verschiedene Stadien der Spermatidendifferenzierung mit Ausbleiben der Kernkondensation. Halbschematische Zeichnungen nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen. Vergr. ca. 6000fach

häufig bei akrosomlosen, rundköpfigen Spermatozoen auf (Abb. 7a), kann jedoch auch bei Spermatiden mit regelrechter Akrosombildung und Kernkondensation nachgewiesen werden (Abb. 7b). 5. Als Mißbildungen des Axonema findet man: Verlust von Tubuli (Abb. 8, 1—7), überzählige Tubuli oder periphere Fasern (Abb. 8, 8—10), Zerstörung der 9 + 2-Anordnung des Axonema (Abb. 8, 11—13), Doppelbildungen (Abb. 8, 14, 18), unvollständige Doppelbildungen (Abb. 8, 15, 17), teilweise Entwicklung der Tubulus- und Faserstrukturen des Schwanzes außer-

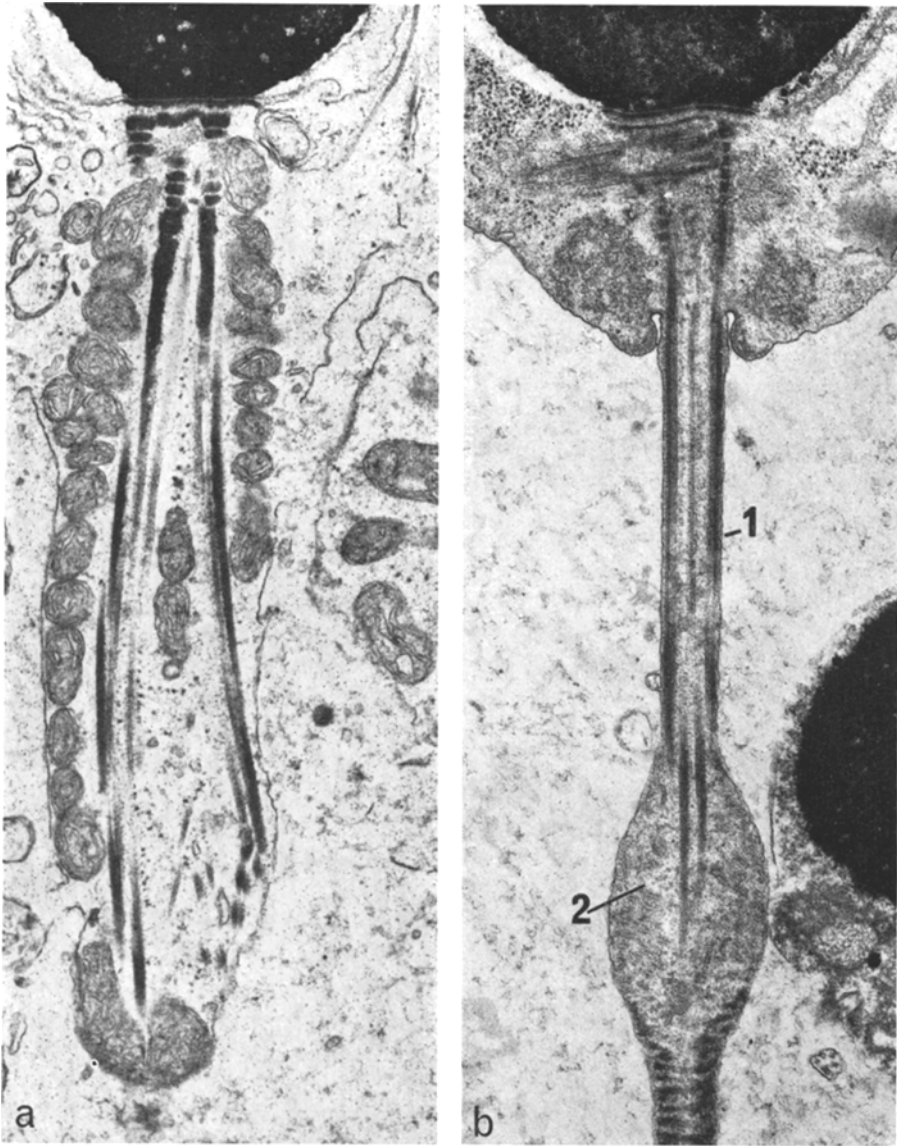


Abb. 6. (a) Schwanzmißbildung einer Spermatide aus dem Hoden eines 47jährigen Mannes mit Teratozoospermie. Das Axonema ist aufgetrieben und die Tubulusstrukturen sind teilweise verselbständigt. Vergr. 25700  $\times$ . (b) Spermatide mit einer Mißbildung des Mittelstücks des Schwanzes aus dem Hoden eines 42jährigen Mannes. Die Mitochondrienscheide fehlt (1). Der Beginn des Hauptstücks wird durch den spindelförmigen Körper (2) angegeben, der aus Mikrotubuli besteht. Vergr. 25700  $\times$

halb der Faserscheide (Abb. 8, 16). 6. Mißbildungen der Faserscheide des Hauptstücks bestehen in einer erheblichen Verdickung der Scheide mit Vermehrung der Faserstrukturen (Abb. 8, 19) oder in einer Überlappung von Mitochondrien-



Abb. 7

scheide des Mittelstücks und Faserscheide des Hauptstücks (Abb. 8, 20), so daß auf Querschnitten beide Scheiden angeschnitten sind. Letztere Mißbildung geht mit einer Verschiebung des Annulus als Abgrenzung zwischen Mittel- und Hauptstück oder mit vollständigem Fehlen des Annulus einher. 7. Am schwierigsten zu beurteilen sind Fehlbildungen der Halsregion. Das regelrechte Aussehen der Halsregion bei menschlichen Spermatozoen ist zwar beschrieben (De Kretser, 1969; Pedersen, 1974), Formvariationen scheinen hier jedoch besonders zahlreich zu sein. Aus der Fülle der Beobachtungen sollen nur einige eindeutige Bilder herausgestellt werden: Ansatz von zwei Schwänzen an einem Spermatidenkern (Abb. 9a), statt des Streifenkörpers der Halsregion gibt es nur eine Ansammlung globulären elektronendichten Materials (Abb. 9b), der Streifenkörper fehlt (Abb. 9c) der Streifenkörper und die Triplets des proximalen Zentriols zeigen gestörte Anordnung (Abb. 9d).

#### *Gleichzeitige Fehlentwicklung mehrerer Zellbestandteile der Spermatiden*

Bei Patienten mit Teratozoospermie kommen gelegentlich auch Spermatiden mit Fehlentwicklung mehrerer Zellbestandteile vor. Man sieht folgende immer wiederkehrende Kombinationen: 1. Abnorm geformtes Akrosom und Fehlbildung des Axonema (Unterdrückung von Tubuli), 2. Verlust des Akrosoms (bei rundköpfigen Spermatiden) und Aufwicklung des Schwanzes um den Kern, 3. Störung der Kernreifung und Ausbleiben der Schwanzentwicklung, 4. Fehlentwicklung des Akrosoms unabhängig vom Spermatidenkern und Fehlen der Mitochondrienscheide des Mittelstücks.

Eine Abgrenzung gegenüber dem Normalbefund ist manchmal schwierig, weil der Normalablauf der Spermatidendifferenzierung beim Menschen noch nicht in allen Details bekannt ist. Die Variation des „normalen“ morphologischen Bildes in Beziehung zur Motilität oder Befruchtungsfähigkeit eines Spermatozoon ist weitestgehend unklar.

### Diskussion

Abnorme Spermatiden und Spermatozoen des Menschen zeigen meistens Fehlbildungen einzelner Zellbestandteile; Akrosom, Kern oder Schwanz können isoliert betroffen sein. Es treten aber auch unterschiedliche Kombinationen von Fehlbildungen auf. Die häufigsten Fehlbildungen manifestieren sich bei dem in dieser Untersuchung bearbeiteten Material am Akrosom. Berücksichtigt man auch die Morphogenese des Akrosoms während der Spermatidendifferenzierung, dann werden zwei grundsätzliche Arten von Akrosomfehlbildungen erkennbar, 1. im Kontakt zum Spermatidenkern, 2. unabhängig vom Spermatidenkern.

Abb. 7. (a) Rundköpfige, akrosomlose Spermatide im Ejaculat eines 33jährigen Patienten. Der Annulus (1) ist nicht deszendiert, das Mittelstück besitzt keine Mitochondrienscheide (2), am Übergang zum Hauptstück findet sich ein Rest des spindelförmigen Körpers (3). Vergr. 20300 $\times$ . (b) Spermatide aus dem Hoden eines 33jährigen Mannes. Akrosom und Kern sind normal geformt, die Mitochondrienscheide des Mittelstücks fehlt, der Annulus (4) sitzt kernnah. Vergr. 20300 $\times$

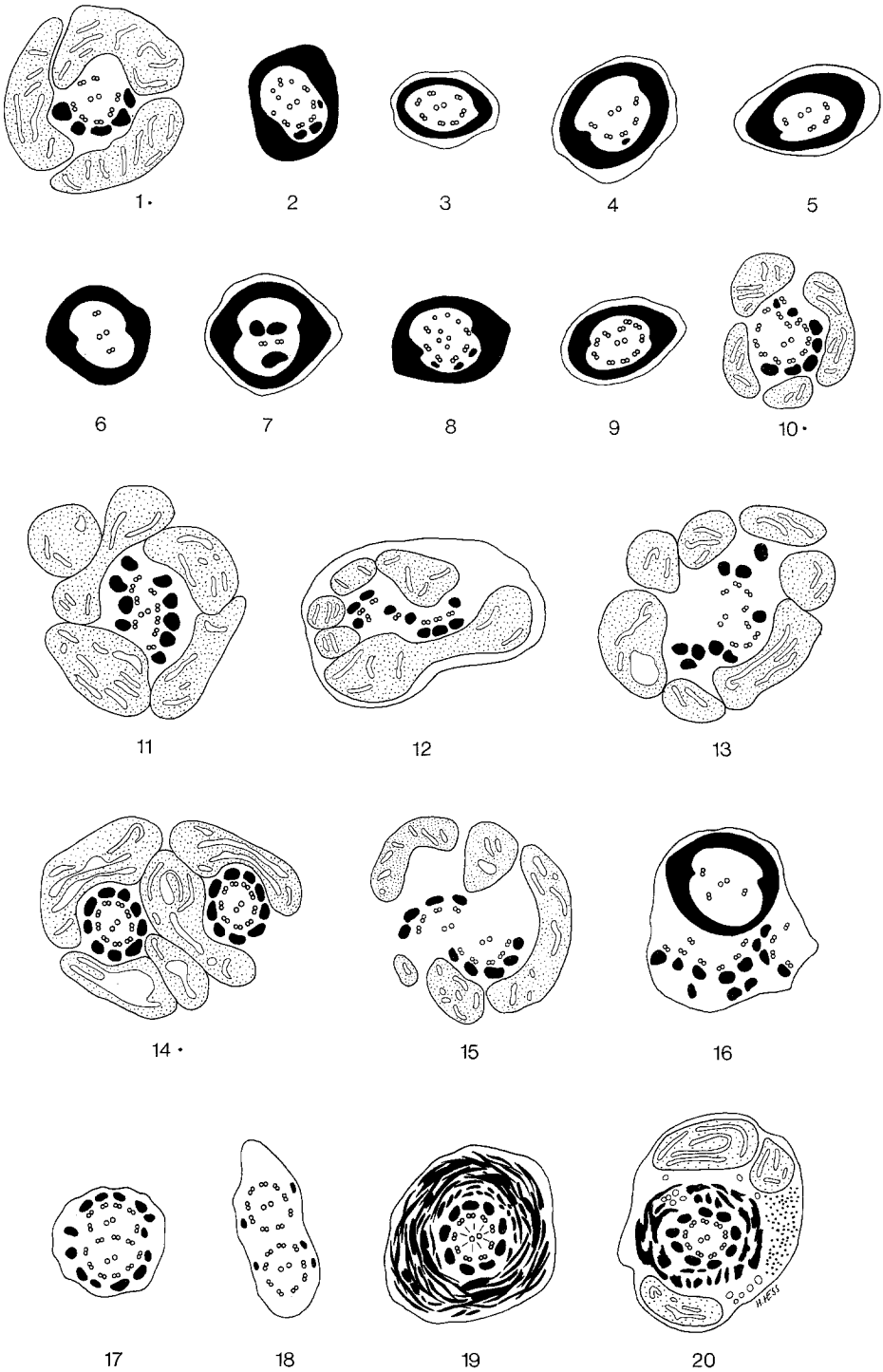


Abb. 8. Schwanzmißbildungen. Einzelheiten siehe Text! Zeichnung nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen. Vergr. ca. 14000fach

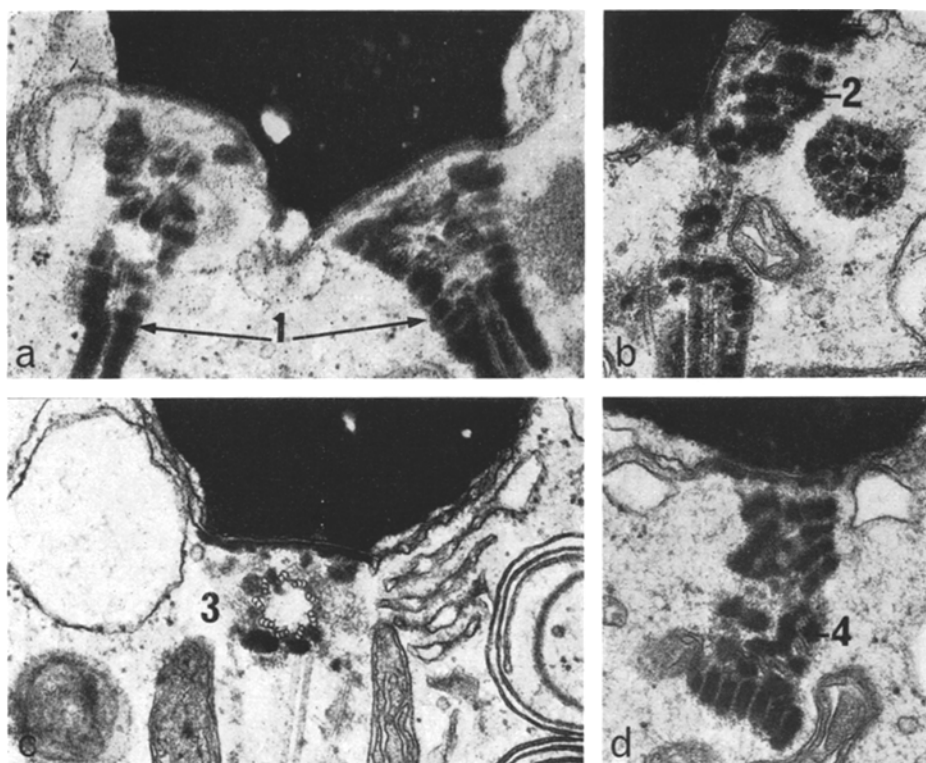


Abb. 9a—d. Mißbildungen der Halsregion des Schwanzes von Spermatozoen aus dem Nebenhoden von Männern mit Oligozoospermie. (a) Doppelte Schwanzanlagen (1), (b) globuläres elektronendichtes Material (2) ersetzt den Streifenkörper, (c) der Streifenkörper fehlt (3), (d) Streifenkörper und Triplets des Zentriols sind deformiert. Vergr. ca. 40000  $\times$

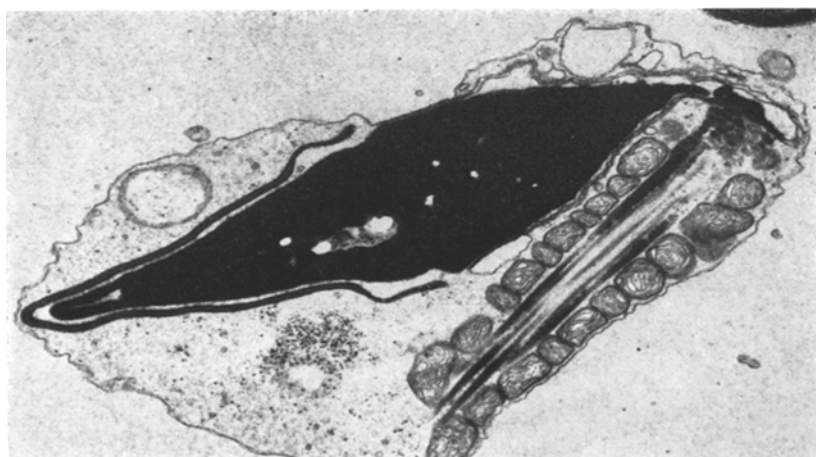


Abb. 10. Ablösung des Spermatozoenkopfes vom Schwanz. Spermatozoon aus dem Nebenhoden eines 38jährigen gesunden Mannes. Vergr. ca. 16400  $\times$

Über Mißbildungen des Akrosoms im Kontakt zum Spermatidenkern liegen in der Literatur bereits einige Mitteilungen vor: Fujita, Miyoshi, Tokunaga (1970) zeigten Akrosomzysten, Matano (1971) beschrieb doppelköpfige Spermatiden, deren Kerne durch ein T-förmiges Akrosom verbunden werden, Bedford, Calvin, Cooper (1973) fanden Akrosomdeformationen bei einzelnen und doppelköpfigen Spermatiden, Barham u. Berlin (1974) beobachteten Vesikeleinschlüsse im Akrosom einer doppelköpfigen Spermatide und ein Akrosom, das 4 Spermatidenkerne miteinander verbindet, und Renieri (1974) bildete ein Spermatozoon ab mit verdichtetem Akrosom und Zysteneinlagerung. Diese Beobachtungen werden in der vorliegenden Untersuchung bestätigt und um weitere charakteristische Formen wie Einfaltungen des Akrosoms in den Spermatidenkern, partielle Abhebungen des Akrosoms vom Kern, apikale Falten- und Zystenbildungen und Vesikeleinschlüsse des Akrosoms erweitert.

Auf die vom Kern unabhängige Akrosombildung haben Schirren, Holstein, Schirren (1971), Holstein, Schirren, Schirren (1973) bei der Beschreibung der Morphogenese der rundköpfigen Spermatozoen hingewiesen. Diese Art der Akrosomfehlbildung führt zum Verlust des Akrosoms bei der Abgabe der Spermatiden aus dem Keimepithel (Spermiation), im Ejaculat erscheinen rundköpfige, akrosomlose Spermatozoen (Pedersen und Rebbe, 1974). Diese Fehlbildung ist, wenn sie in geringen Prozentsätzen bei einem Individuum auftritt, relativ schwer festzustellen. Bei der Untersuchung der Spermatiden sind besonders charakteristisch eine vom Kern abgewendete Lage der elektronendichten akrosomalen Substanz in der Akrosomblase oder abseits vom Kern im Zytoplasma vorkommende Ring- oder Schalenbildungen aus elektronendichtem akrosomalem Material. Gelegentlich können Akrosombildungen auftreten, die fast die Form eines Normalakrosoms aufweisen, aber nicht den Spermatidenkern, sondern nur eine oder mehrere Blasen des endoplasmatischen Reticulum umschließen. Da bei dieser Akrosomform, soweit bisher festgestellt werden konnte, eine Manschette aus Mikrotubuli fehlt, können die Vermutungen von Fawcett, Anderson und Phillips (1971) unterstützt werden, die eine Beteiligung der Sertolizelle an der Formbildung des Spermatozoenkopfes in Erwägung ziehen.

Mehrkernige Spermatiden zeigen eine Verklebung ihrer Kerne durch akrosomale Blasen oder zum Teil abenteuerlich mißgebildete große Akrosomformationen. Dabei sind entweder Paarbildungen von je zwei Spermatidenkernen oder 3—4 miteinander verbundene Kerne in einem Zelleib zu beobachten. Bei den meisten mehrkernigen Spermatiden findet man auch pro Kern einen Schwanz. Teilweise sind jedoch Schwanzanlagen unterdrückt. Ob in diesen Fällen Zentriolen und Mitochondrien in angemessener Zahl fehlen oder wegen der engen Aneinanderlagerung der Kerne die Polarisierung zwischen Akrosom- und Schwanzanlage gestört ist, konnte nicht geklärt werden. Überhaupt ist völlig ungewiß, ob primär eine Akrosomblase mehrere Spermatidenkerne miteinander verklebt oder ob die Aufteilung der Spermatidenkerne auf Einzelzellen ausbleibt und als Folge davon die Akrosomblasen der Spermatidenkerne zusammenfließen. Untersuchungen an Mäusen (Bryan, Wolosewick, 1973) zeigen, daß bei mehrkernigen Spermatiden jeder Spermatidenkern sein eigenes Akrosombläschen haben kann.

Mißbildungen des Kerns treten in drei Erscheinungsformen auf:



1. Membran- oder Tubulusformationen sind in den Kern eingestülpt oder hängen der Kernmembran von außen an.

2. Nur wenig Karyoplasma wird bei der Spermatidendifferenzierung zu granulärem Kernmaterial kondensiert, sehr große Vacuolen mit feingranulärem transparentem Material herrschen vor.

3. Die bei der Spermatidenreifung normalerweise auftretende Verdichtung des Karyoplasma bleibt aus.

Wie weit diese morphologisch faßbaren Veränderungen am Kern auf Störungen der Kernkondensation hinweisen oder mit abnormem DNS-Gehalt einhergehen, ist noch ungeklärt. Mikrospektrophotometrische Untersuchungen von Leuchtenberger (1960), Meyhöfer (1965), Bouters, Esnault, Salisbury, Ortavant (1967), Stolla, Gropp (1974) haben gezeigt, daß menschliche oder auch tierische Spermatozoen von der Norm abweichende DNS-Mengen enthalten können, die für pathologisch gehalten werden.

Schwanzmißbildungen menschlicher Spermatiden/Spermatozoen sind von Fujita, Miyoshi, Tokunaga (1971), Pedersen, Rebbe, Hammen (1971), Ross, Christie, Kerr (1971), Ross, Christie, Edmond (1973) und Renieri (1974) in Einzelbeobachtungen beschrieben worden.

Bei Berücksichtigung dieser Mitteilungen und der vorliegenden Untersuchungen kann festgestellt werden, daß Schwanzmißbildungen meistens einzelne Strukturelemente wie den axialen Filamentenkomplex, die Halsregion, die Mitochondrienscheide des Mittelstücks oder die Faserscheide des Hauptstücks betreffen.

Ein Beispiel hierfür ist besonders eindrucksvoll: Beim Fehlen der Mitochondrienscheide besteht das Mittelstück nur aus dem axialen Filamentenkomplex, die Faserscheide des Hauptstücks beginnt jedoch etwa in normalem Abstand distal vom Kern. Der Anfang des Hauptstücks wird durch den spindelförmigen Körper markiert, der an der Bildung der Faserscheide beteiligt zu sein scheint (De Kretser, 1969). Der spindelförmige Körper formiert sich während der Streckung des Spermatidenkerns nahe der Halsregion des Schwanzes, er wandert dann ca.  $4\mu$  nach distal und bildet sich dort bei zunehmender Entwicklung der Faserscheide des Hauptstücks zurück (Wartenberg, Holstein, 1975). Normalerweise folgt dem „descensus“ des spindelförmigen Körpers der „descensus“ des Annulus und die Mitochondrien gruppieren sich um den axialen Filamentenkomplex. Sind jedoch keine Mitochondrien vorhanden, dann descendiert der Annulus nicht, sondern bleibt kernnah liegen. Am Mittelstück bleibt der Platz der Mitochondrien frei.

Diese Beobachtungen zeigen, daß die Entwicklung des Hauptstücks und seiner Faserscheide unabhängig von der Entwicklung des Mittelstücks ablaufen kann. Die Position des Annulus ist jedoch von der Entwicklung der Mitochondrienscheide abhängig.

Mißbildungen des axialen Filamentenkomplexes imponieren als Störungen der  $9+2$ -Anordnung der Tubuli und Filamente. Bei Mißbildung der äußeren 9 Filamente liegt häufig auch eine stark veränderte Halsregion vor; der Streifenkörper ist in diesen Fällen destruiert oder fehlt vollständig.

Wie weit die beschriebenen Mißbildungen die Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen und bei gehäuftem Auftreten solcher abnormer Spermatozoen im Ejaculat die Fertilität eines Mannes beeinflussen, ist schwer zu beurteilen.

Aus Untersuchungen an Tieren weiß man, daß z.B. Spermatozoen mit „knobbed acrosomes“ (Donald, Hancock, 1953; Blom, Birch-Andersen, 1962) mit Schleifenbildung des Mittelstücks (Hancock, Rollinson, 1949), mit einem sog. „Dag-defect“ des Schwanzes (strongly coiled and folded tails, Blom, 1966; Koefoed-Johnsen, Pedersen, 1971 oder sog. „corkscrew-sperms“ (Blom, 1959) Infertilität verursachen. Auch die Korrelation zwischen abnormen Strukturen und biochemischen Daten ist noch unbefriedigend. Beim Menschen gilt als gesichert, daß die rundköpfigen Spermatozoen akrosomlos sind. Das Fehlen der akrosomalen Substanz, der Akrosins, läßt sich biochemisch nachweisen (Fritz *et al.*, 1972; Zaneveld *et al.*, 1972). Ob jedoch auch Zysten, Abfaltungen und ähnliche Fehlbildungen des Akrosoms mit Enzymdefekten einhergehen und die Befruchtungsfähigkeit eines Spermatozoen einschränken oder verhindern, ist unklar. Bei Schwanzmißbildungen, wie dem vollständigen Fehlen der Mitochondrienscheide, ist wegen der vermutlich fehlenden mitochondriengebundenen Enzyme für den Bewegungsstoffwechsel des Spermatozoon mit Unbeweglichkeit zu rechnen. Die anderen zahlreichen Schwanzdefekte sind in ihrer Auswirkung auf die Motilität der Spermatozoen nur mit Zurückhaltung zu beurteilen. Smith, Oura, Zamboni (1970) konnten jedenfalls bei Mäusen zeigen, daß Spermatozoen mit Schwanzdefekten in befruchteten Eiern enthalten waren.

Über die Ursachen für das Auftreten fehlgebildeter Spermatozoen beim Menschen liegen noch keine zuverlässigen Informationen vor, mehrere Punkte wären anzuführen:

1. Im Verlaufe der Keimzellentwicklung geht eine bestimmte Anzahl von Samenzellen physiologischerweise zugrunde (Roosen-Runge, 1973). So sterben auch Spermatiden ab und erscheinen als deformierte oder autolytisch veränderte Zellen im Biopsiematerial oder im Ejaculat.

2. Es gibt Hinweise, daß bestimmte Pharmaka das Auftreten fehlgebildeter Spermatozoen fördern (Barham und Berlin, 1974), oder ohne bisher erkennbare Veränderungen der Morphologie die Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen mindern können (Steinberger, Steinberger, 1972).

3. Gehäuftes Auftreten der gleichen Fehlbildung bei einem Mann deutet auf programmierte Defekte hin. Durch Untersuchungen an Tieren ist gesichert, daß bestimmte Spermatozoenmißbildungen genetisch bedingt sein können (Literatur s. Hancock, 1972 und Bishop, 1972).

Eine Zuordnung der in dieser Arbeit beschriebenen abnormen Spermatiden und Spermatozoen zu bestimmten andrologischen Krankheitsbildern muß weiteren eingehenden Studien vorbehalten bleiben.

### Literatur

- Barham, S. S., Berlin, J. D.: Fine structure and cytochemistry of testicular cells in men treated with testosterone propionate. *Cell Tiss Res* **148**, 159—182 (1974)
- Baumgarten, H. G., Holstein, A. F., Rosengren, E.: Arrangement, ultrastructure, and adrenergic innervation of smooth musculature of the ductuli efferentes, ductus epididymidis and ductus deferens of man. *Z. Zellforsch.* **120**, 37—79 (1971)
- Bedford, J. M., Calvin, H., Cooper, G. W.: The maturation of spermatozoa in the human epididymis. *J. Reprod. Fertil., Suppl.* **18**, 199—213 (1973)
- Bishop, M. W. H.: Genetically determined abnormalities of the reproductive system. *J. Reprod. Fertil., Suppl.* **15**, 51—78 (1972)

- Blom, E.: A rare sperm abnormality: "corkscrew-sperms" associated with sterility in bulls. *Nature* (Lond.) **183**, 1280—1281 (1959)
- Blom, E.: A new sterilizing and hereditary defect (the Dag defect) located in the bull sperm tail. *Nature* (Lond.) **209**, 739—740 (1966)
- Blom, E., Birch-Andersen, A.: Ultrastructure of the sterilizing "knobbed-sperm" defect in the bull. *Nature* (Lond.) **194**, 989—990 (1962)
- Bouters, R., Esnault, C., Salisbury, G. W., Ortavant, R.: Discrepancies in analyses of deoxyribonucleic acid in rabbit spermatozoa, involving Feulgen staining (Feulgen-DNA) and ultraviolet light absorption (UV-DNA) measurements. *J. Reprod. Fertil.* **14**, 355—363 (1967)
- Bryan, J. H. D., Wolosewicz, J. J.: Spermatogenesis revisited. II. Ultrastructural studies of spermiogenesis in multinucleate spermatids of the mouse. *Z. Zellforsch.* **138**, 155—169 (1973)
- Donald, H. P., Hancock, J. L.: Evidence of gene-controlled sterility in bulls. *J. agric. Sci. Camb.* **43**, 178 (1953)
- Fawcett, D. W., Anderson, W. A., Phillips, D. M.: Morphogenetic factors influencing the shape of the sperm head. *Develop. Biol.* **26**, 220—251 (1970)
- Fritz, H., Förg-Brey, B., Fink, E., Meier, M., Schießler, H., Schirren, C.: Humanacrosin: Gewinnung und Eigenschaften. *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **353**, 1943—1949 (1972)
- Fujita, T., Miyoshi, M., Tokunaga, J.: Scanning and transmission electron microscopy of human ejaculate spermatozoa with special reference to their abnormal forms. *Z. Zellforsch.* **105**, 483—497 (1970)
- Hancock, J. L.: Spermatogenesis and sperm defects. In: *The genetics of the spermatozoon*. Proceedings ed. by R. A. Beatty and S. Glueckson-Waelsch, p. 121—130. Edinburgh-New York: 1972
- Hancock, J. L., Rollinson, D. H. L.: A seminal defect associated with sterility of Guernsey bulls. *Vet. Rec.* **61**, 742—743 (1949)
- Holstein, A. F., Mauß, J.: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchung fehlgebildeter Spermatiden in zwei Fällen von Teratozoospermie. *Hautarzt* **26**, 144—148 (1975)
- Holstein, A. F., Schirren, C., Schirren, C. G.: Human spermatids lacking acrosomes. *J. Reprod. Fertil.* **35**, 489—491 (1973)
- Horstmann, E.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Spermioghistogenese beim Menschen. *Z. Zellforsch.* **54**, 68—89 (1961)
- Hotchkiss, R. S.: *Fertility in men*. Philadelphia: Lippincott 1944
- Ito, S., Winchester, R. J.: The fine structure of the gastric mucosa in the bat. *J. Cell Biol.* **16**, 541—577 (1963)
- Joel, C. A.: Appendix to diagnosis of male fertility disturbances. In: *Fertility disturbances in men and women*, hrsg. v. C. A. Joel, S. 107—123. Basel: Karger 1971
- Koefoed-Johnsen, H. H., Pedersen, H.: Further observations on the Dag defect of the tail of the bull spermatozoon. *J. Reprod. Fertil.* **26**, 77—83 (1971)
- De Kretser, D. M.: Ultrastructural features of human spermiogenesis. *Z. Zellforsch.* **98**, 477—505 (1969)
- Leuchtenberger, C.: The relation of the desoxyribonucleic acid (DNA) of sperm cells to fertility. *J. Dairy Sci., Suppl.* **43**, 31—53 (1960)
- Luft, J. H.: Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. biophys. biochem. Cytol.* **9**, 409—414 (1961)
- MacLeod, J.: Human seminal cytology as a sensitive indicator of the germinal epithelium. *Int. J. Fertil.* **9**, 281—295 (1964)
- MacLeod, J.: The clinical implications of deviations in human spermatogenesis as evidenced in seminal cytology and the experimental production of these deviations. In: *Fertility and sterility*, hrsg. v. B. Westin und N. Wiquist, *Excerpta Medica Found. Nr. 133*, S. 563—574. Amsterdam: Excerpta Medica 1967
- Matano, Y.: Ultrastructural study on human binucleate spermatids. *J. Ultrastruct. Res.* **34**, 123—134 (1971)
- Meyhöfer, W.: Desoxyribonucleinsäurebestimmung und klinische Fertilitätsdiagnostik. In: *Neue Ergebnisse der Andrologie*, hrsg. v. C. Schirren. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1965

- Pedersen, H., Rebbe, H., Hammen, R.: Human sperm fine structure in a case of severe asthenospermia-necrospermia. *Fertil. and Steril.* **22**, 156–164 (1971)
- Pedersen, H.: The human spermatozoon. Copenhagen: Costers Bogtrykkeri 1974
- Pedersen, H., Rebbe, H.: Fine structure of rounded human spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* **37**, 51–54 (1974)
- Renieri, T.: Submicroscopical observations on abnormal human spermatozoa. *J. submicr. Cytol.* **6**, 421–432 (1974)
- Reynolds, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **17**, 208–212 (1963)
- Roosen-Runge, E. C.: Germinal cell loss in normal metazoan spermatogenesis. *J. Reprod. Fertil.* **35**, 339–348 (1973)
- Ross, A., Christie, Sh., Kerr, M. G.: An electron microscope study of a tail abnormality in spermatozoa from a subfertile man. *J. Reprod. Fertil.* **24**, 99–103 (1971)
- Ross, A., Christie, S., Edmond, P.: Ultrastructural tail defects in the spermatozoa from two men attending a subfertility clinic. *J. Reprod. Fertil.* **32**, 243–251 (1973)
- Smith, D., Oura, C., Zamboni, L.: Fertilizing ability of structurally abnormal spermatozoa. *Nature (Lond.)* **227**, 79–80 (1970)
- Schirren, C. G. sen., Holstein, A. F., Schirren, C.: Über die Morphogenese rundköpfiger Spermatozoen des Menschen. *Andrologie* **3**, 117–125 (1971)
- Stefanini, M., De Martino, C., Zamboni, L.: Fixation of ejaculated spermatozoa for electron microscopy. *Nature (Lond.)* **216**, 173 (1967)
- Steinberger, E., Steinberger, A.: Testis: basic and clinical aspects. In: *Reproductive biology*, hrsg. v. H. Balin und S. Glasser, S. 144–267. Amsterdam: Excerpta Medica 1972
- Stolla, R., Gropp, A.: Variation of the DNA content of morphologically normal and abnormal spermatozoa in mice susceptible to irregular meiotic segregation. *J. Reprod. Fertil.* **38**, 335–346 (1974)
- Venable, J. H., Coggeshall, R.: A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **25**, 407–408 (1965)
- Wartenberg, H., Holstein, A. F.: Morphology of the “spindle-shaped body” in the developing tail of human spermatids. *Cell Tiss. Res.* (1975) (im Druck)
- Williams, W. W.: Male sterility. In: *Handbuch der Urologie*, hrsg. v. K. E. Alken, K. W. Dix, Bd. XII, S. 202–296. Berlin: Springer-Verlag 1960
- Zaneveld, L. J. D., Dragoje, B. M., Schumacher, G. F. B.: Acrosomal proteinase and proteinase inhibitor of human spermatozoa. *Science* **177**, 702–703 (1972)

Prof. Dr. A. F. Holstein  
Abteilung für Mikroskopische Anatomie  
Universität Hamburg  
D-2000 Hamburg 20  
Martinistraße 52  
Bundesrepublik Deutschland