

## CONTRIBUTIONS À L'ÉTUDE DE LA SPERMATOGENÈSE

L'ÉTAT PLASMODIAL (MULTINUCLÉÉ) DES CELLULES SÉMINALES

A. RIVENZON et M. CONDOÏU

(Reçu le 19. août 1958)

### Introduction

Dans une publication antérieure [6] nous avons étudié la spermatogenèse à l'aide de frottis et d'empreintes de testicule. L'aspect des cellules séminales, des cellules interstitielles et des cellules de SERTOLI a été décrit, en précisant les éléments cytologiques nécessaires pour leur diagnostic différentiel.

En étudiant les frottis testiculaires nous avons remarqué l'existence des cellules séminales multinuclées. Le présence de ces formes dans le testicule normal et pathologique — nous a incité de les étudier minutieusement, en cherchant à établir si leur existence est constante. Nous avons aussi étudié leur mode de formation, leur évolution ultérieure et le rapport quantitatif des formes mono- et multinuclées.

### Aperçu bibliographique

Parmi les travaux consultés, nous citerons les travaux de REGAUD [3, 4, 5] qui étudie à l'aide de coupes histologiques la spermatogenèse chez différents animaux, en constatant l'existence des formes multinuclées parmi les cellules séminales. Quoiqu'il trouve des cellules multinuclées non seulement chez les animaux malades mais aussi chez les animaux sains, il les considère comme des cellules séminales dégénérées, et les appelle *tératocytes*. Le nom de tératocyte, désigne donc (selon REGAUD) toute cellule séminale d'aspect anormal (géante, petite, ou multinuclée).

L'auteur ne précise pas s'il a trouvé chez les animaux sains parmi les tératocytes des formes cellulaires géantes et petites, ou si ces tératocytes sont représentées uniquement par des cellules séminales multinuclées.

Quant à la genèse de ces formes multinuclées, REGAUD croit qu'elles apparaissent par division mitotique du noyau (karyodiérèse) non suivie de cytodière, ayant comme conséquence l'apparition de plusieurs noyaux dans le même cytoplasme.

STROGANOVA [8] a étudié le testicule du cobaye, de la souris et du rat à l'aide des coupes et sur des frottis. Elle arrive à la conclusion que l'on peut toujours trouver des cellules multinuclées dans le testicule de l'animal sain, où elles représentent 5 à 22 p. 100 des cellules séminales. STROGANOVA fait remarquer que, vu leurs caractères techniques, les coupes histologiques ne permettent pas, dans la plupart des cas, l'observation des formes multinuclées ; la présence où l'absence de ces formes ne peut être constatée d'une manière certaine que seulement sur des frottis. Elle suppose également que ces formes plasmodiales résultent de la division directe du noyau. Chez l'homme c'est STIEVE [7], JOËL [1], LANE-ROBERTS [2] etc. qui étudient les spermatoïdes polynucléaires.

### Matériel et technique

Nous avons étudié les testicules de 500 rats, 150 souris, 5 chiens, 2 cobayes et 3 hommes (castrés chirurgicalement pour cancer prostatique).

Nous procédons de la manière suivante: avec la surface de section du testicule nous faisons des frottis et des empreintes. Les préparations ainsi obtenues sont fixées et puis colorées au May—Grünwald—Giemsa (tout comme les frottis de sang). Les cellules séminales ainsi colorées ont une polychromasie aussi riche que belle.

Nous avons examiné plus de 2000 frottis.

Vingt testicules (dont 10 normaux et 10 pathologiques) ont été étudiés non seulement sur des frottis, mais aussi sur des coupes histologiques après inclusion à la paraffine, pour établir si on peut constater aussi sur les coupes l'existence des cellules multinuclées qui ont toujours été observées auparavant sur les frottis faits avec les mêmes testicules.

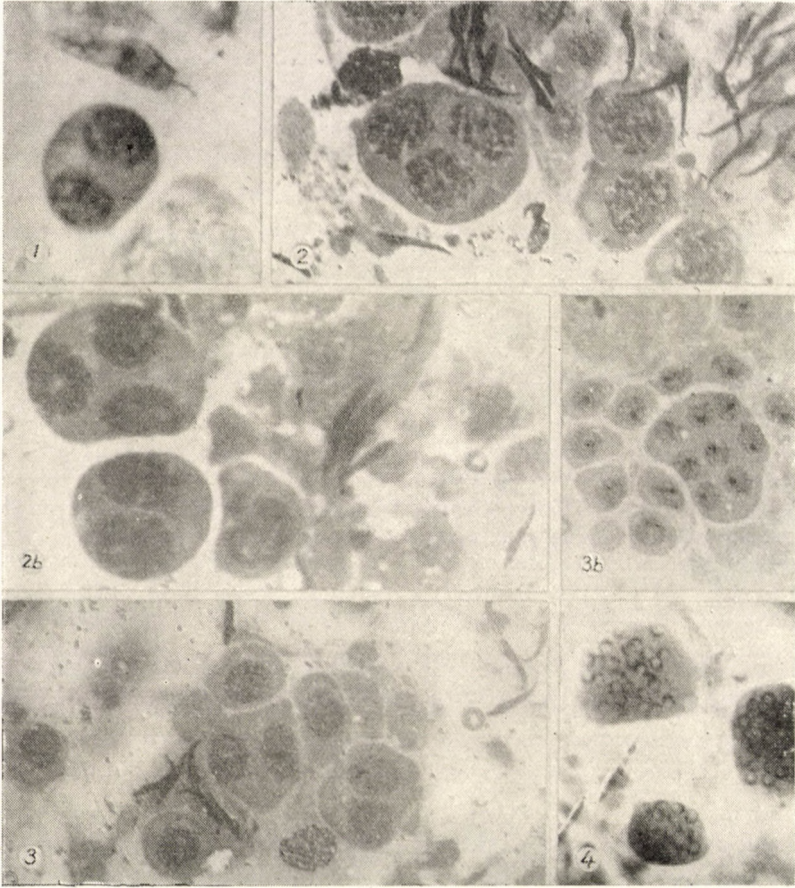
### Observations personnelles

#### I

#### *Les cellules séminales plasmodiales normales et pathologiques*

En examinant les frottis, nous avons constaté chez *tous* les animaux étudiés (dont deux tiers étaient normaux) des cellules séminales multinuclées contenant de 2 à 30 noyaux.

La comparaison des frottis avec les coupes histologiques du même testicule démontre sur les coupes de testicule *normal*, la présence des cellules multinuclées est difficile (si non impossible) à observer, parce que l'agglomération des cellules, leur superposition et la séparation des noyaux par les divers plans de section conduisent à l'impossibilité pratique d'apprécier la localisation de deux ou plusieurs noyaux dans le même cytoplasme.

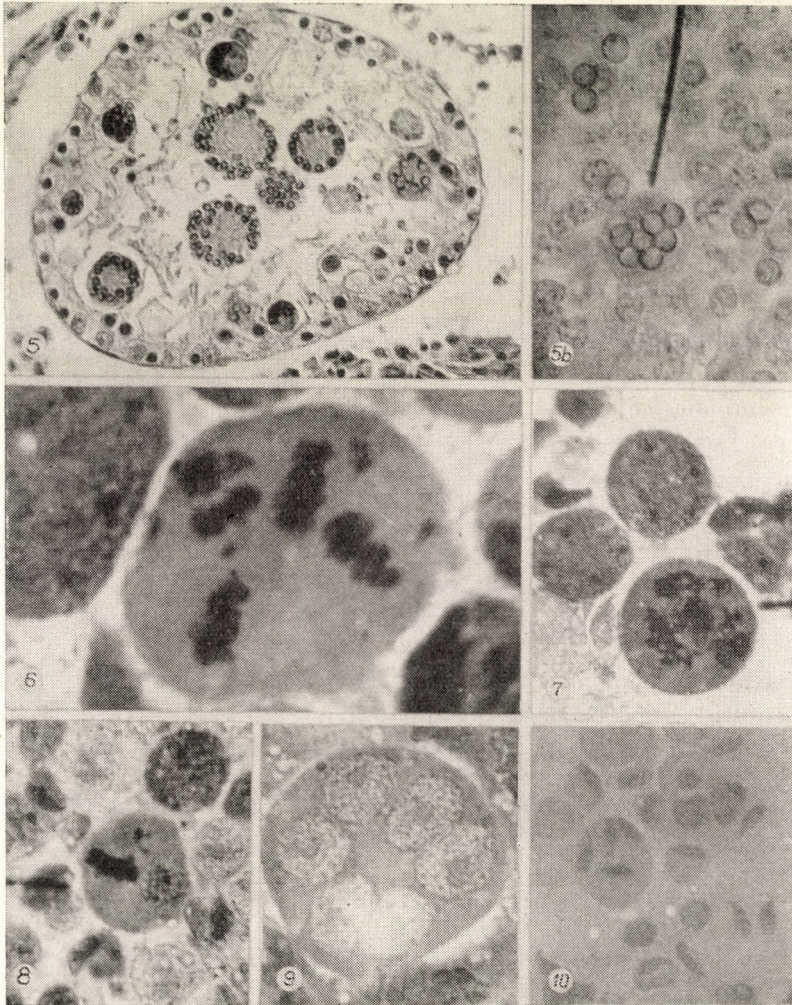


- Fig. 1.* Frottis de testicule (souris normale). Spermatogonie avec deux noyaux  
*Fig. 2.* Frottis de testicule (rat normal). Spermatocyte avec trois noyaux (à comparer avec les spermatocytes mononucléés voisins)  
*Fig. 2. bis:* Frottis de testicule (rat normal). Spermatocytes avec un, deux ou trois noyaux.  
*Fig. 3.* Frottis de testicule (rat normal). Spermatides avec un et deux noyaux  
*Fig. 3. bis.* Frottis de testicule (souris normale). Spermatide contenant huit noyaux, entourée de spermatides mononucléés. Toutes sont d'aspect normal  
*Fig. 4.* Frottis de testicule (rat). Cellules seminales pathologiques à plusieurs noyaux vacuolysés. Animal porteur d'une greffe intratesticulaire de sarcome IOB 9

Ces défauts sont évités grâce aux frottis, qui nous offrent la possibilité d'étudier des cellules séparées, intactes et disposées sur le même plan.

Quant au testicule malade, nous avons constaté la présence de cellules multinucléés sur les frottis aussi bien que sur les coupes (Fig. 4, 5, 5 bis).

En ce qui concerne la formation des cellules multinucléés chez l'animal normal, nous sommes d'accord avec REGAUD. Nous avons observé des karyokinèses plasmodiales avec 2—4—6—8 groupes chromosomiaux (Fig. 6, 7, 16);



*Fig. 5 et 5 bis* : Coupe histologique (testicule de rat greffé avec le sarcome IOB 9). Parmi les cellules seminales très raréfiées et dégénérées il y a des cellules avec plusieurs noyaux vacuolysés. Coloration : hématoxyline-eosine

*Fig. 6.* Frottis de testicule (souris normale). Mitose multipolaire (métaphases)

*Fig. 7.* Frottis de testicule (souris normale). Mitose multipolaire (prophases)

*Fig. 8.* Frottis de testicule (souris normale). Spermatide binucléé ; un noyau est en repos, l'autre en mitose (plaque équatoriale)

*Fig. 9.* Frottis de testicule (souris normale). Spermatide normale avec six noyaux

*Fig. 10.* Frottis de testicule (souris normale). Plusieurs cytoplasmes de spermatide contenant 1—4 têtes de spermatozoïdes d'aspect normal

d'habitude tous ces groupes chromosomiaux se trouvent dans la même phase de karyokinèse.

Une fois seulement nous avons vu sur un frottis de testicule normal une image dans laquelle un noyau était au repos, l'autre en karyokinèse (Fig. 8). Chez l'animal normal, la division du noyau (karyodiérèse) non suivie de division cytoplasmique (cytodiérèse) donne naissance à la cellule multinucléé.

### *Discussion*

L'analyse de nos résultats (obtenus par la méthode des frottis) aboutit à la conclusion selon laquelle les affirmations sur la nature dégénérative des cellules séminales multinucléés des animaux sains, sont discutables.

Il est vrai que si le testicule devient le siège d'un processus pathologique on observe sur les frottis et sur les coupes des soi-disant tératocytes (c'est à dire des cellules séminales dégénérées : géantes, petites, multinucléés).

Or, de la description de REGAUD, il résulte (sans être expressément précisé) que la seule forme de tératocyte qu'on puisse trouver chez l'animal sain, est la forme multinucléé.

Les cellules multinucléés seraient, donc des éléments „dégénérés” communs au testicule normal et pathologique ; mais la comparaison des cellules multinucléés du testicule pathologique à celles de testicule normal, permet la révélation de nombreux caractères distinctifs. Les différences sont analogues à celles qui existent entre les cellules séminales mononucléés normales et pathologiques (fig. no. 4, 5). Les modifications pathologiques (c'est à dire vacuolyse, pyknose et inégalité nucléaire) sont les mêmes pour les cellules mononucléés et multinucléés du testicule malade, les deux types cellulaires étant au même degré atteints par l'agent pathogène (Fig. 4, 5).

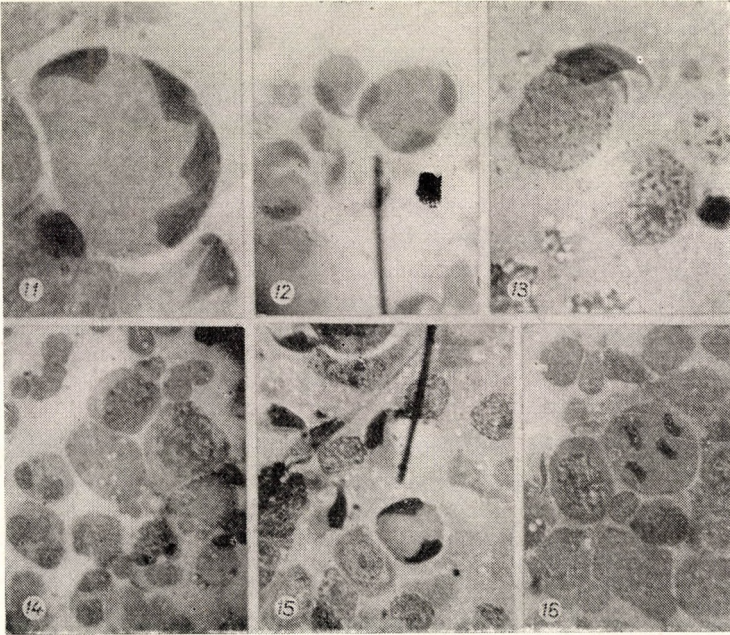
Au contraire, l'examen minutieux des cellules séminales multinucléés du testicule normal, ne permet pas de signaler le moindre aspect dégénératif ; ces cellules sont parfaitement semblables aux cellules mononucléés du même testicule, à l'exception du nombre des noyaux.

Il résulte que les cellules séminales multinucléés ont des caractères dégénératifs seulement lorsque les cellules mononucléés environnantes ont les mêmes caractères (testicule malade) ; dans le testicule sain les cellules mononucléés normales coexistent avec des cellules multinucléés d'aspect normal.

L'ancienne erreur de REGAUD a donc pour cause l'insuffisance technique de la méthode utilisée (étude exclusive des coupes) car, comme nous l'avons fait remarquer plus haut, il est difficile de distinguer les cellules séminales multinucléés, sur les coupes de testicule normal, quoiqu'elles existent constamment sur les frottis. Par contre sur les coupes de testicule malade, la raréfaction cellulaire rend l'observation plus facile, mais les cellules ont alors

un aspect pathologique, ce qui a déterminé à tort, l'extension du terme „pathologique” à toutes les cellules séminales multinucléés.

Une autre preuve de l'état „sain” des cellules multinucléés du testicule normal est fournie par l'analyse de l'évolution d'une cellule spermatocytaire multinucléé. Celle-ci se transforme en spermatide multinucléé, qui pendant sa maturation se divise en plusieurs spermatozoïdes mononucléés, ou bien en



*Fig. 11.* Frottis de testicule (souris normale). Cytoplasme de spermatide avec quatre têtes de spermatozoïde

*Fig. 12.* Frottis de testicule (souris normale). Cytoplasme de spermatide contenant trois têtes de spermatozoïdes dont l'une commence à quitter le cytoplasme

*Fig. 13.* Frottis de testicule (souris normale). Cytoplasme de spermatide avec deux têtes de spermatozoïde quittant ensemble le cytoplasme

*Fig. 14.* Frottis de testicule d'homme, castré pour cancer prostatique. Il y a des cellules séminales avec un ou plusieurs noyaux

*Fig. 15.* Frottis de testicule (souris normale). Cytoplasme de spermatide contenant deux têtes de spermatozoïde

*Fig. 16.* Frottis de testicule (rat normal). Mitose multipolaire (deux anaphases)

continuant à évoluer comme plasmode, elle donnera pourtant naissance à des spermatozoïdes normaux. La métamorphose des noyaux spermatidiques peut être aisément observée; parfois on voit des cytoplasmes spermatidiques contenant 2—3—4 têtes de spermatozoïde, formées par la transformation des noyaux respectifs (fig. no. 10, 11, 15). Aucune de ces têtes de spermatozoïde ne diffère du point de vue morphologique ou tinctorial d'une tête de spermatozoïde provenant d'une cellule mononucléé. On peut voir la sortie et la sépa-

ration des spermatozoïdes du cytoplasme d'origine et leur passage vers une existence individualisée (Fig. 12, 13).

Par conséquent, les cellules multinucléées normales évoluent tout comme les cellules mononucléées correspondantes, en donnant naissance à des spermatozoïdes d'aspect normal. Souvent, les spermatozoïdes quittent le cytoplasme individuellement (Fig. 12). Il y a des cas (beaucoup plus rares) où les spermatozoïdes quittent le cytoplasme leurs têtes réunies (Fig. 13); c'est peut-être la manière de formation des spermatozoïdes bicéphaliques qui ont été décrites dans le liquide spermatique des individus sains.

### *Conclusions*

1. — Il y a deux sortes de cellules séminales multinucléées : normales (chez les animaux sains) et pathologiques (chez les animaux dont le testicule est atteint par un processus pathologique).

2. — Excepté le nombre des noyaux, une cellule multinucléée normale est caractérisée par l'identité morphologique et tinctoriale avec la cellule mononucléée correspondante (spermatogonie, spermatocyte, spermatide); les deux formes évoluent d'une manière semblable.

3. — Une cellule multinucléée pathologique est parfaitement comparable aux cellules mononucléées pathologiques qui l'entourent, par la pyknose et la vacuolyse nucléaire, l'altération de la colorabilité cytoplasmique, etc. En outre, les noyaux inégaux des cellules multinucléées pathologiques sont irrégulièrement localisées dans le cytoplasme.

## II

### *La „formule séminale” et sa variation normale*

L'existence constante des cellules séminales multinucléées dans le testicule normal et pathologique, permet l'étude quantitative de ces formes, par rapport aux formes mononucléées.

La variation quantitative des multinucléées a été déjà remarquée par REGAUD, mais la technique employée n'a pas permis d'établir une relation objective (exprimée par chiffres) et il a dû se limiter aux appréciations subjectives, comme „fréquentes, rares”, etc.

En employant les frottis, STROGANOVA a pu déterminer un pourcentage global.

Nous avons compté les cellules séminales sur des frottis de testicule de souris et de rat blanc, adulte et sain. Les animaux utilisés avaient à-peu-près le même poids et étaient depuis longtemps soumis au même régime alimentaire.

On a compté les cellules multinuclées séparément pour chaque type cellulaire (spermatocyte, spermatide) en comptant chaque fois 200 cellules, et établissant ainsi une sorte de „formule séminale”.

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants :

## Souris adultes

## Testicule droit

Nr. de l'animal	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	Valeur moyenne	Limites
Plasmodés spermatidiques %	6	8	15	8	10	11	16	16	8	10,5	6—16
Plasmodés spermatocytiques %	3	7	14	9	11	14	10	11	15	10,4	3—15

## Testicule gauche

Nr. de l'animal	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	Valeur moyenne	Limites
Plasmodés spermatidiques %	10	19	9	8	8	5	9	10	13	9,4	5—13
Plasmodés spermatocytiques %	11	11	11	7	8	7	8	9	7	8,7	7—11

## II.

## Rats adults

## Testicule gauche

Nr. de l'animal	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	Valeur moyenne	Limites
Plasmodés spermatidiques %	9	5	7	4	4	7	7	5	7	7	6,2	4—9
Plasmodés spermatocytiques %	13	6	7	6	8	7	7	6	11	10	7,5	6—13

L'analyse des résultats montre que le pourcentage des spermatocytes multinuclées est à peu près égal au pourcentage des spermatides multinuclées.

Chez le même animal, les pourcentages sont à peu près égaux pour les deux testicules, ce qui pourrait indiquer que ces chiffres expriment un certain état fonctionnel.

Nous continuerons nos recherches en essayant d'établir si le pourcentage des cellules multinuclées est en relation avec les fonctions normales ou pathologiques du testicule ; cette relation permettra peut-être l'appréciation cytologique de l'état fonctionnel du testicule.



## Résumé

L'application de la technique des frottis à l'étude cytologique de la spermatogenèse nous a permis d'aboutir aux conclusions suivantes :

1. — Dans les tubes séminifères des mammifères étudiés se trouvent des cellules séminales avec deux ou plusieurs noyaux. Excepté le nombre des noyaux, ces cellules sont parfaitement semblables du point de vue morphologique et tinctorial aux cellules séminales mononucléaires environnantes.

2. — La cellule séminale multinucléé se rencontre dans chaque testicule normal ou pathologique.

3. — Chez les animaux adultes, sains, la proportion des cellules multinucléés est de 6—8 p. 100 (rats) et de 8—11 p. 100 (souris).

## BIBLIOGRAPHIE

1. JOËL, N. : (1942) Studien am menschlichen Sperma. Basel. — 2. LANE-ROBERTS, W. : (1948) Sterility and impaired fertility, London. — 3. REGAUD, C. : (1900) Evolution tératologique des cellules séminales. Les spermatides à noyaux multiples chez les mammifères. *Bibliographie anatomique* 8, 24. — 4. REGAUD, C. : (1900) Evolution tératologique des cellules séminales chez les mammifères. Cellules géantes, naines et à noyaux multiples. *C. R. Soc. Biol. Paris.* 52, 293. — 5. REGAUD, C. : (1900) Dégénérescence des cellules séminales chez les mammifères en absence de tout état pathologiques. *C. R. Soc. Biol. Paris.* 52, 268. — 6. RIVENZON, A. : (1954) Contribution à l'étude de la spermatogenèse. *Bull. Acad. section med. R. P. R.*, 6, no. 4. 1043. — 7. STIEVE, H. : (1930) *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen.* Springer, Berlin. — 8. СРОГАНОВА, Н. С. : (1952) Амитоз в ходе сперматогенеза. *Докл. Акад. Наук* 4. 326.

О СОЗРЕВАНИИ СПЕРМЫ. ПЛАЗМОДИАЛЬНОЕ (МНОГОЯДЕРНОЕ)  
СОСТОЯНИЕ СЕМЕННЫХ КЛЕТОК

А. РИВЕНЗОН и М. КОНДОИУ

Авторы проводили на мазках цитологические исследования созревания спермы и установили следующее :

1. В семенных канальцах исследованных млекопитающих имеются двуждерные или многоядерные семенные клетки. С морфологической точки зрения, как и в отношении окрашивания, эти клетки, за исключением многоядерности, не отличаются от окружающих одноядерных семенных клеток.

2. Многоядерные семенные клетки встречаются во всех нормальных и патологических яичках.

3. У здоровых взрослых животных число этих клеток у крыс 6—8%, а у мышей 8—11%.

BEITRÄGE ZUR SPERMATOGENESE. PLASMODIALER (MULTINUKLEÄRER)  
ZUSTAND DER SAMENZELLEN

A. RIVENZON und M. CONDOIU

Bei der zytologischen Untersuchung der Spermatogenese wurde festgestellt:

1. In den Hodenkanälchen der untersuchten Säugetiere sind zwei- oder vielkernige Samenzellen vorhanden. Hinsichtlich der Morphologie und der Färbung — abgesehen von der Vielkernigkeit — unterscheiden sie sich von den umgebenden mononukleären Samenzellen nicht.

2. Vielkernige Samenzellen kommen in allen normalen und pathologischen Hoden vor.

3. In gesunden erwachsenen Tieren beträgt die Zahl dieser Zellen bei Ratten 6—8%, bei Mäusen 8—11%.

Dr. A. RIVENZON }  
Dr. M. CONDOIU } București, Bul. 1. Mai, No 11. Rep. Pop. Romîna