

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXXV, 37

SECTIO D

1980

I Klinika Ginekologii Operacyjnej. Instytut Późnictwa i Chorób Kobiecych.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Henryk Żrubeł

Marian SEMCZUK

**Wpływ przewlekłego podawania alkoholu etylowego
na stan morfologiczny najądrzy szczura białego**

**Влияние хронического применения этилового алкоголя на морфологическую
картину придатков Яичка белой крысы**

**Effect of Chronic Alcohol Intoxication on the Morphological State of the Epididymis
in the White Rat**

Rola najądrzy w procesie rozwoju i dojrzewania męskich komórek rozrodczych nie została jeszcze ostatecznie poznana. Wiadomo, że zawarte w nich związki lipidowe posiadają właściwości ochronne oraz niewątpliwie biorą udział w przemianach, jakie odbywają się w obrębie plemników podczas ich wędrówki przez najądrza (7).

Wielu autorów prowadziło wcześniej badania doświadczalne nad stanem morfologicznym głównych oraz dodatkowych gruczołów płciowych z uwzględnieniem najądrzy u szczura białego poddanego działaniu szkodliwych substancji chemicznych, pestycydów, hormonów (3, 4, 5, 12).

Prowadzone już były wcześniej badania nad stanem morfologicznym gonady męskiej, pęcherzyków nasiennych i gruczołu krokowego szczura białego w warunkach przewlekłej intoksykacji alkoholowej (8, 10). Śledzono także stan morfologiczny nasienia tych zwierząt w zależności od czasu trwania intoksykacji (9). Obecne badania własne, uwzględniające wagę oraz stan morfologiczny najądrzy zwierząt poddanych przewlekłej intoksykacji alkoholowej, są dopełnieniem wcześniejszych badań własnych.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 64 szczurach, samcach szczepu Wistar w wieku 3—4 miesięcy i początkowym ciężarze ciała 150—200 g. Obserwowane zwierzęta podzielono na 4 grupy doświadczalne, przy czym dla każdej grupy alkoholizowanych szczurów ustalono oddzielną grupę kontrolną. Każdą z grup doświadczalnych sta-

nowiło 10 szczurów, a kontrolną 6. W poszczególnych grupach czas trwania doświadczenia wynosił 13, 51, 102 i 204 dni.

Przez cały czas trwania doświadczenia zwierzęta karmione były paszą granulowaną „LSM”, a do picia podawano im wodę w dowolnych ilościach. Szczury grup doświadczalnych otrzymywały ponadto codziennie rano na czczo 40% alkohol etylowy przez sondę żołądkową w dawce 3 g/kg wagi ciała. Ostatnią dawkę alkoholu podawano 24 godz. przed zabiciem. Kontrolowano wagę zwierząt w przebiegu doświadczenia oraz po jego zakończeniu. Oceniano wygląd makroskopowy najądrzy zwierząt doświadczalnych i kontrolnych, a następnie narządy te ważono. Skrawki utrwalone w płynie Bouina, zatapiano w parafinie. Celem przeprowadzenia obserwacji morfologicznej skrawki parafinowe barwiono metodą trójbarwną Massona oraz błękitem alcjanowym (1). Uzyskane wagi narządów zwierząt grup doświadczalnych i kontrolnych poddano analizie statystycznej według testu *t* Studenta

WYNIKI BADAŃ

Końcowe wagi ciała oraz bezwzględne wagi najądrzy poszczególnych zwierząt badanych grup zestawiono w tab. 1. Analizę statystyczną wag najądrzy zwierząt zaliczonych do grup doświadczalnych i odpowiadających im grup kontrolnych przeprowadzono podając wagę narządu w miligramach na 1 g wagi ciała zwierzęcia (tab. 2).

Grupa kontrolna

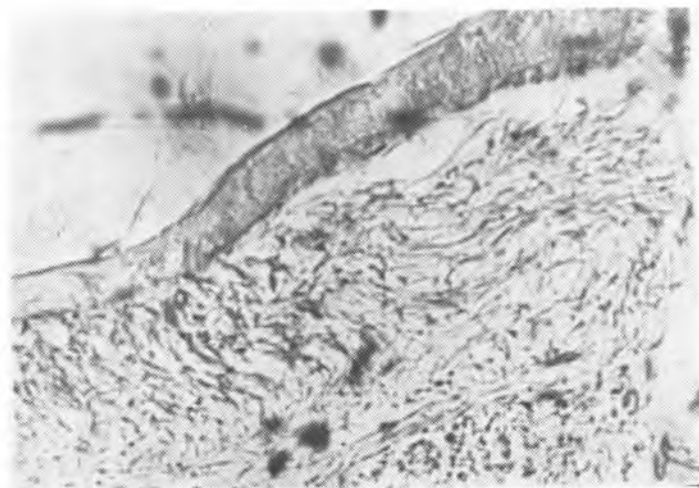
Podstawową strukturą mikroskopową najądrzy szczura białego są przewody wyprowadzające nasienie. Są one wyścielone nabłonkiem, którego komórki mają kształt kolumn. Zwykle wysokość tych komórek stopniowo zwiększa się w kierunku części ogonowej narządu. Komórki kolumnowe posiadają mikrokosmki (*stereocilia*) — sterzące do światła przewodu, gdzie widoczna jest duża ilość plemników. Komórki wyścielające światło przewodów otoczone są przez komórki podstawowe, których jest mniej w odcinku środkowym i ogonowym narządu (ryc. 1 i 2). W preparatach barwionych błękitem alcjanowym intensywny odczyn barwny zaobserwowano w nabłonku kolumnowym, w główkach plemników, zaś znacznie mniejszy w mikrokosmkach.

Grupa I doświadczalna

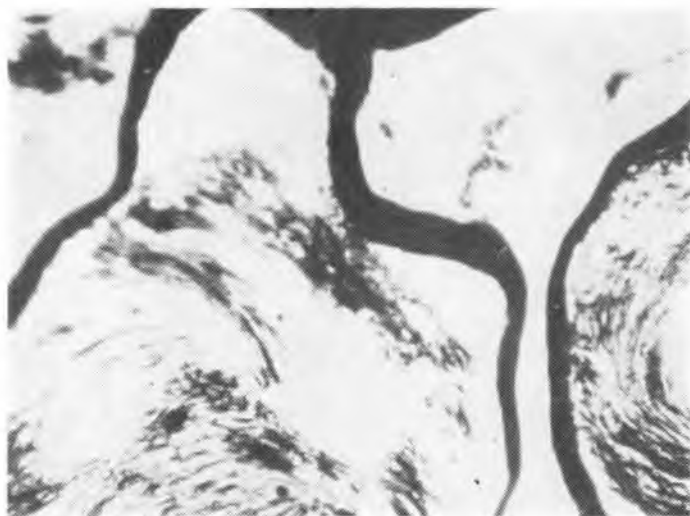
Waga najądrzy zwierząt zaliczonych do grupy I doświadczalnej mieści się w granicach 3,19—5,65 mg/g wagi ciała, a wartość średnia wynosi 4,90 mg/g. Porównując wartości uzyskane w tej grupie zwierząt z wartościami odpowiadającej im grupy kontrolnej (I), uzyskano różnicę, któ-



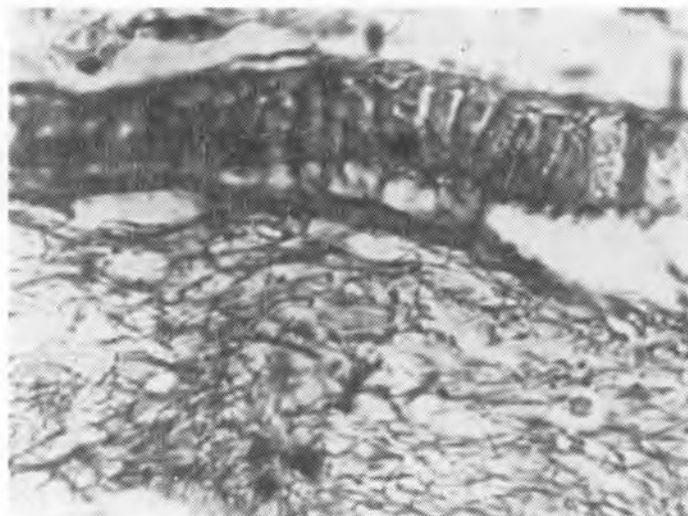
Ryc. 1



Ryc. 2



Ryc. 3



Ryc. 4

Tab. 1. Zestawienie wagi ciała (g) i wagi najądrzy (mg) zwierząt grup doświadczalnych i kontrolnych
 The list of body weights (g) and the weight of the epididymis (mg) of the animals in the experimental and control groups

Grupy	L.p.	Grupa I			Grupa II			Grupa III			Grupa IV		
		waga ciała	waga najądrza	waga ciała	waga ciała	waga najądrza	waga ciała	waga najądrza	waga ciała	waga najądrza	waga ciała	waga najądrza	
Doświadczalne	1	200	415	190	450	230	450	260	350	260	350	350	
	2	210	540	205	375	230	425	240	375	240	375	375	
	3	235	375	230	300	250	425	270	386	270	386	386	
	4	200	470	220	250	180	425	280	475	280	475	475	
	5	190	565	210	450	220	425	230	350	230	350	350	
	6	180	500	220	450	255	450	320	510	320	510	510	
	7	200	495	190	475	230	375	260	325	260	325	325	
	8	200	575	180	475	210	425	300	400	300	400	400	
	9	235	480	170	404	220	450	240	300	240	300	300	
	10	190	525	180	403	220	420	270	370	270	370	370	
\bar{x}	204,0	493,0	182,8	403,1	223,3	425,4	267,5	386,6	267,5	386,6	386,6		
Kontrolne	1	205	475	220	525	330	450	305	510	305	510	510	
	2	180	290	220	500	330	450	295	474	295	474	474	
	3	200	410	235	425	290	450	300	450	300	450	450	
	4	200	225	235	400	270	475	295	450	295	450	450	
	5	215	450	260	475	290	475	310	450	310	450	450	
	6	230	270	320	425	330	460	325	510	325	510	510	
\bar{x}	205,0	353,0	248,3	454,1	306,6	460,0	306,6	474,2	306,6	460,0	474,2		

ra okazała się statystycznie istotna ($t=3,06$, $P<0,001$). Wahania międzyosobnicze wagi najądrzy zwierząt zaliczonych do grupy I doświadczalnej są niewielkie ($S=0,85$, $V=17,4\%$), a nieznacznie większe okazały się w odpowiadającej jej grupie kontrolnej ($S=1,00$, $V=29,1\%$).

Struktura najądrzy zwierząt zaliczonych do grupy I doświadczalnej okazała się prawidłowa.

Grupa II doświadczalna

Waga najądrzy zwierząt zaliczonych do grupy II doświadczalnej mieści się w granicach 2,27—5,28 mg/g wagi ciała, a wartość średnia wynosi 3,0 mg/g. Porównując wartości uzyskane w tej grupie zwierząt z wartościami odpowiadającej jej grupy kontrolnej (II), uzyskano różnicę, która okazała się statystycznie nieistotna ($t=0,47$, $P>0,60$). Wahania międzyosobnicze są niewielkie w obu porównywanych grupach (tab. 2).

Tab. 2. Analiza statystyczna wag najądrzy (w mg/g ciała) zwierząt grup doświadczalnych i kontrolnych
Statistical analysis of the weights of the epididymis (in mg/g of body) of the animals in the experimental and control groups

Grupy		Grupa I	Grupa II	Grupa III	Grupa IV
Doświadczalne	cechy	$S=0,852$	$S=1,090$	$S=0,399$	$S=0,332$
	statystyczne	$V=17,4\%$	$V=27,3\%$	$V=10,4\%$	$V=11,2\%$
	zakres wartości	3,19—5,65	2,27—5,28	3,26—4,72	2,50—3,39
	wartość średnia	4,897	3,992	3,829	2,874
	Istotność różnic	$t=3,06$ $P<0,01$	$t=0,47$ $P>0,60$	$t=3,69$ $P<0,01$	$t=1,63$ $P>0,10$
Kontrolne	wartość średnia	3,457	3,743	3,070	3,108
	zakres wartości	3,01—5,80	3,20—5,60	3,15—4,90	3,00—4,80
	cechy	$S=1,006$	$S=0,786$	$S=0,346$	$S=0,159$
	statystyczne	$V=29,1\%$	$V=21\%$	$V=11,3\%$	$V=5,1\%$

Budowa mikroskopowa najądrzy zwierząt zaliczonych do obecnie analizowanej grupy była bardzo zbliżona do obserwowanej w grupie zwierząt kontrolnych.

Grupa III doświadczalna

Waga najądrzy zwierząt zaliczonych do grupy III doświadczalnej mieści się w granicach 3,26—4,72 mg/g wagi ciała, a wartość średnia wynosi 3,90 mg/g. Porównując wartości uzyskane w tej grupie zwierząt z wartościami odpowiadającej jej grupy kontrolnej (III), uzyskano różnicę, która okazała się statystycznie istotna ($t=3,96$, $P<0,01$). W tej

grupie doświadczalnej oraz w odpowiadającej jej grupie kontrolnej wahań międzyosobnicze uzyskanych wag najądrzy są bardzo niewielkie, zbliżone do siebie (tab. 2).

Obraz mikroskopowy najądrzy zwierząt zaliczonych do grupy III doświadczalnej okazał się zbliżony do obrazów tego narządu zwierząt zaliczonych do poprzednio analizowanych grup, tylko w świetle przewodów obserwowano nieco większą ilość plemników.

Grupa IV doświadczalna

Waga najądrzy zwierząt zaliczonych do grupy IV doświadczalnej mieści się w granicach 2,50—3,39 mg/g wagi ciała, a wartość średnia wynosi 2,88 mg/g. Porównując wartości uzyskane w tej grupie zwierząt z wartościami odpowiadającej jej grupy kontrolnej (IV) uzyskano różnicę, która okazała się statystycznie nieistotna ($t=1,63$, $P>0,10$). Wahań międzyosobnicze wagi najądrzy zwierząt zaliczonych do tej grupy doświadczalnej były niewielkie ($S=0,32$, $V=11,2\%$), a jeszcze mniejsze w odpowiadającej jej grupie kontrolnej ($S=0,16$, $V=5,1\%$).

Nabłonek wyścielający przewody najądrzy zwierząt analizowanej grupy składał się nadal z komórek o kształcie kolumnowym, które zawierały jednak znacznie mniej mikrokosmków. Miejscami mikrokosmków były znacznie krótsze lub w ogóle było ich brak. W świetle przewodów najądrzy spotykano dużo plemników, przy czym miejscami ich obrysy okazały się rozdęte. Widoczne ziarnistości w świetle przewodów mogły być wynikiem rozpadu plemników jak również mogły świadczyć o rozpoczynającej się ich homogenizacji. Barwienie błękitem alcjanowym wykazało także ziarnistości w okolicy mikrokosmków (ryc. 3 i 4).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W badaniach własnych wykazano, że waga najądrzy zwierząt stopniowo zmniejszała się wraz z wydłużaniem czasu podawania im alkoholu etylowego. Natomiast niewielkie zmiany mikroskopowe, jak: zwiększenie liczby plemników oraz obecność ziarnistości w świetle przewodów, a także zmniejszenie ilości lub zupełny brak mikrokosmków na pewnym odcinku, zaobserwowano dopiero w najądrzach tych zwierząt, które otrzymywały alkohol etylowy 204 dni.

Podobne zmiany mikroskopowe obserwowali Drążkowski (2) oraz Drążkowski i wsp. (3) w najądrzach szczurów traktowanych związkami alkilującymi (Cyklofosamid) oraz insektycydami (DDT). Zaś Drążkowski (2) w nasieniu najądrzowym tych zwierząt stwierdził

zmniejszenie liczby plemników, zahamowanie ich ruchliwości oraz obecność plemników o nieprawidłowym kształcie.

Różnorodne zmiany, czasem zbliżone do stwierdzonych w obecnych badaniach własnych, obserwował Flickinger (4, 5) w najądrzach szczurów, którym podawano cytrynian Clomifenu bądź Gestagen (Provera) sam lub łącznie z testosteronem. Po podaniu Clomifenu w wielu przypadkach obserwowano zupełny brak plemników w świetle przewodów (5), zaś najądrza zwierząt otrzymujących preparaty hormonalne (4) były znacznie mniejsze i lżejsze, a w ich obrazach mikroskopowych zwraca uwagę nieregularne światło przewodów, brak w nich plemników, zaś w innych miejscach nadmierne nagromadzenie plemników oraz obecność ziarnistości pochodzących z rozpadu komórek rozrodczych, które to niejednokrotnie wypełniają cały przekrój światła przewodu.

Uwzględniając powyższe, należy przyjąć, że zmiany zaobserwowane w najądrzach szczurów poddanych przewlekłej intoksykacji alkoholowej nie są charakterystyczne. Alkohol etylowy wprowadzony do ustroju w nadmiarze prowadzi do dysregulacji czynności hormonalnej ustroju, hamuje aktywność osi podwzgórze—przysadka—gonada oraz upośledza funkcję hormonalną gonady (8, 12). Z kolei obniżenie poziomu testosteronu w surowicy krwi w tych przypadkach (11) może przyczynić się wtórnie do upośledzenia czynności nabłonka najądrzy, a z czasem do powstania w jego obrębie zmian morfologicznych (13).

Z drugiej zaś strony nie można wykluczyć bezpośredniego toksycznego wpływu alkoholu etylowego na stan czynnościowy i morfologiczny najądrzy, co sugerują dotychczasowe badania nad oddziaływaniem wielu związków chemicznych, także i alkoholu etylowego, na gonadę męską oraz dodatkowe gruczoły płciowe (8, 12).

Z kliniki ludzkiej znane są pewne postacie niepłodności męskiej spowodowane wyłącznie utrudnionym transportem plemników z jądra poprzez najądrza bądź nasieniowody (6). We wcześniejszych badaniach własnych u szczurów otrzymujących przewlekle alkohol etylowy stwierdzono istotnie mniejszą liczbę plemników w jednostce objętości nasienia. Wynika to niewątpliwie z jednej strony z upośledzenia funkcji spermatogenezy jądra, ale w kontekście z obecnymi badaniami należy przyjąć, że plemniki, które są mniej wartościowe, ulegają rozpadowi podczas ich wędrówki przez przewody najądrzy, a rozpadłe masy utrudniają transport pozostałej części plemników.

Nie jest wykluczone, że zaburzenia metaboliczne w komórkach nabłonka najądrzy alkoholizowanych szczurów, szczególnie zaburzenia przemian lipidowych (7), przyczyniają się również do nieprawidłowego dojrzewania plemników podczas ich wędrówki. Problem ten wymaga jednak dalszych badań.

PIŚMIENNICTWO

1. Bagiński S.: Technika mikroskopowa. PWN, Warszawa 1969.
2. Drażkowski H.: *Gin. Pol.* **47**, 1245—1249, 1976.
3. Drażkowski H., Nowak A., Dąbrowski Z.: Pamiętnik V Sympozjum Sekcji Płodności i Niepłodności PTG, Lublin 1978.
4. Flickinger C. J.: *Anat. Rec.* **187**, 4, 431—462, 1977.
5. Flickinger C. J.: *Anat. Rec.* **187**, 4, 579—585, 1977.
6. Kremer J.: *Fertil. and Steril.* Ed. Hasequawa et al. Tokyo 1972, *Exc. Med.*, 491—492.
7. Mann T.: *Biochemia nasienia*. PZWiL, Warszawa 1958.
8. Semczuk M.: *Gegenbauers Morph. Jahrb.* **124**, 4, 546—558, 1978.
9. Semczuk M.: *Gin. Pol.* **49**, 955—961, 1978.
10. Semczuk M., Rzeszowska G.: *Mat. Med. Pol.* 1978 (w druku).
11. Semczuk M., Szymański W.: Pamiętniki V Sympozjum Sekcji Płodności i Niepłodności PTG, Lublin 1978.
12. Van Thiel D. H., Lester R.: *Gastroenterol.* **71**, 318—377, 1976.
13. White J. G., Hudson B.: *J. Endocrinol.* **41**, 291—292, 1968.

Otrzymano 25 V 1979.

OBJAŚNIENIA RYCIŃ

Ryc. 1. Najądrze szczura grupy kontrolnej. Widoczny jest nabłonek przewodów najądrzy ze stereocyliami. Światło kanalika wypełniają liczne plemniki. Barwienie metodą Massona. Pow. ok. 300×.

Ryc. 2. Preparat najądrza szczura grupy kontrolnej barwiony błękitem alcjanowym. Wyraźny odczyn barwny widoczny w obrębie główek plemników oraz komórek nabłonka przewodów, mniejszy w stereocyliach. Pow. ok. 300×.

Ryc. 3. Na preparatach najądrzy szczura grupy IV doświadczalnej obserwuje się mniejszą ilość stereocylii oraz zwiększenie liczby plemników w świetle kanalików. Barwienie metodą Massona. Pow. ok. 300×.

Ryc. 4. Najądrze szczura grupy IV doświadczalnej. Barwienie błękitem alcjanowym. Komórki nabłonka wykazują znacznie intensywniejszą reakcję barwną w porównaniu z grupą kontrolną. W rejonie stereocylii widoczne barwne ziarnistości. Główki plemników zabarwione bardzo intensywnie. Pow. ok. 300×.

РЕЗЮМЕ

Исследование проведено на 64 крысах, самцах штамма Вистар, в возрасте 3—4 месяца и при начальном весе тела 150—200 грамм. Подопытные животные разделено на 4 экспериментальные и соответствующие им контрольные группы. Срок проведения опыта в соответствующих группах продолжался 13, 51, 102, 204 дня. Животные в подопытных группах ежедневно утром натошак, через зонд в желудок, получали 40% этиловый алкоголь в дозе 3 г/кг веса тела.

Производилось измерение веса придатков яичка животных экспериментальных и контрольных групп; кроме того для микроскопической оценки исследуемого органа применялась окраска срезов методом Массона, а также аляновым синием.

Исследования показали, что с увеличением срока введения животным этилового алкоголя уменьшается вес придатков яичка. А такие микроскопические изменения, как увеличение количества сперматозоидов и присутствие зернистости в просвете протока придатка яичка, а также уменьшение или совершенное отсутствие количества стереоцилии в некоторых участках, наблюдалось только в придатках яичка животных, получающих этиловый алкоголь 204 дня (IV группа).

В статье обсуждаются механизмы которые могут быть ответственными за токсическое воздействие этилового алкоголя на морфологическое и функциональное состояние придатков яичка наблюдаемых животных.

SUMMARY

The experiments were carried out on 64 rats of Wistar strain, aged between 3 to 4 months, of initial body weight of 150 to 200 g. The animals were divided into 4 experimental groups and for each group of alcoholized rats there was a separate control group. The period of the experiment was approximately 13, 51, 102 and 204 days. The animals in the experimental groups were given 40% of ethyl alcohol in a dose of 3 g/kg of body weight every day by a stomach tube.

The weights of the epididymis in the experimental and control animals were determined. The sections of the epididymis for microscopic evaluation were stained with Masson's three-coloured stain and the alcyan blue method was used.

A gradual decrease in the weight of the animal epididymis was noticed alongside with increasing time of alcoholization. The microscopic changes such as an increase in the number of spermatozoa and the presence of granulations in the lumen of the ductus and also a decrease in the amount or complete lack of stereocilia in some sections were observed in the epididymis of the rats which were given ethyl alcohol for the longest period (204 days).

The mechanism which could be responsible for the toxic action was discussed.

EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. The epididymis of a control rat. The epithelium of the epididymis with stereocilia are visible. The lumen of the tubule contains spermatozoa. Staining by Masson's three-colour method. Magn. ca. 300X.

Fig. 2. A fragment of the epididymis of a control rat, stained by alcyan blue method. A positive reaction in the head of spermatozoon and tubule epithelium cells. Magn. ca. 300X.

Fig. 3. In the epididymis of a rat (experimental group IV) a decreased number of stereocilia and an increased number of spermatozoa are visible in the lumen of the tubule. Staining by Masson's three-colour method. Magn. ca. 300X.

Fig. 4. The epididymis of a rat (experimental group IV). In the epithelial cell an increased colour reaction is visible in comparison with that of control group. Coloured granulation is well visible among the stereocilia. The heads of the spermatozoa are intensely stained. Magn. ca. 300X.