

INSTITUTO DE CIENCIAS BASICAS Y PRECLINICAS “VICTORIA DE GIRON”

DEPARTAMENTO DE HISTOLOGÍA

EFFECTOS DE LA INGESTION CRÓNICA DE ETANOL SOBRE LA ESTRUCTURA DE LOS TESTÍCULOS DE LA RATA ALBINA

Dra. María Caridad García Barceló

Teléf. 862 5896

Dr. Andrés Dovale Borjas

Teléf. 832 3377

adovale@infomed.sld.cu

RESUMEN

Numerosos estudios afirman que, el consumo crónico de etanol provoca alteraciones de la estructura y función testiculares. En nuestro trabajo evaluamos los efectos del consumo crónico de etanol sobre el peso de los testículos, el diámetro de los túbulos seminíferos, el volumen nuclear de las células de Leydig y los niveles plasmáticos de testosterona, la ganancia de peso corporal y el consumo de pienso y líquidos en ratas sometidas a la ingestión forzada de etanol al 15 %, en el agua de beber, durante 8, 16 y 24 semanas. A todas las ratas se les administró Polivit como complemento vitamínico. Se encontró una disminución significativa del consumo de líquido, de pienso y de la ganancia de peso corporal

en las ratas experimentales. No se encontraron diferencias significativas en el peso de los testículos, el diámetro de los tubos seminíferos, en el volumen nuclear de las células intersticiales de Leydig, ni en las concentraciones de testosterona en sangre. Estos resultados difieren de lo reportado por otros autores y se atribuyen a un posible efecto protector de las vitaminas aportadas por el Polivit.

Palabras clave

Rata albina, etanol, testículos, tubos seminíferos, células de Leydig, testosterona, vitaminas

Introducción

Los trastornos de la espermatogénesis son las alteraciones más frecuentes observadas en la infertilidad masculina; una de sus causas es la acción de agentes químicos, entre los cuales se destaca el alcohol (1, 2, 3). El alcoholismo es la más trascendente y difundida de las toxicomanías; por lo que se considera la drogadicción típica y un mecanismo portero para la adquisición de otras dependencias (4). Se afirma que, alrededor del 70 % de la población mundial de 16 años y más consume el tóxico, y que de ellos el 10 % se convierten en alcohólicos (5). Sin duda, el alcoholismo es el problema de droga más importante en el mundo por las complicaciones físicas, mentales y sociales que produce; y se considera responsable de la reducción de 12 años de la expectativa de vida en los alcohólicos (2, 6).

El consumo crónico de alcohol limita la absorción intestinal en general y acelera el recambio de ácido fólico, tiamina y piridoxina, siendo una de las causas más

importantes de las deficiencias de folato (7, 8), tiamina, piridoxina, y de vitaminas A, D, E, C, B2 y B12 en alcohólicos crónicos (9, 10, 11, 12).

En el hombre el alcoholismo crónico es causa de hipogonadismo y feminización, pérdida del vello pubiano, de la libido, disfunciones sexuales eréctiles y orgásmicas e infertilidad. Estos trastornos se acompañan de una disminución de los niveles séricos de testosterona (2, 3, 6, 13).

En individuos alcohólicos se ha reportado disminución del peso y volumen testicular, atrofia testicular, disminución del diámetro de los túbulos seminíferos, con pérdida de celularidad de los mismos (14, 15, 16).

Por lo antes expuesto, nos planteamos conocer los efectos que ocasiona la ingestión crónica de etanol sobre el peso de los testículos, el diámetro de los túbulos seminíferos, el volumen nuclear de las células de Leydig, los niveles plasmáticos de testosterona, la ganancia de peso corporal y el consumo de pienso y líquido en ratas Wistar adultas.

Material y Método

Se emplearon 48 ratas Wistar adultas macho de 10 semanas de nacidas, procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), divididas al azar en tres grupos de 18, 15 y 15 ratas cada uno. A 10 animales de cada grupo se les administró como agua de beber solución de etanol 15 g por cada 100 ml, durante 8, 16 y 24 semanas respectivamente, los restantes animales fueron tomados como controles y tuvieron libre acceso al agua. A todos los animales se les administró una tableta de Polivit por cada 500 ml de solución. Los animales se mantuvieron en cajas plásticas independientes y recibieron

ratonina suministrada por el CENPALAB. Se midió el consumo diario de líquido y de pienso y se controló semanalmente el peso corporal.

Al concluir el experimento las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico, 40 mg/Kg. de peso por vía IP, se les extrajo 5 ml de sangre del ventrículo izquierdo y se decapitaron. Se extrajeron los testículos y se fijaron por inmersión en líquido de Bouin durante 48 h, se pesaron en una balanza analítica BLA-2002-MT y posteriormente se incluyeron en parafina. Se realizaron cortes histológicos de 6 μm de grosor y se colorearon con hematoxilina y eosina. Las láminas fueron observadas en un fotomicroscopio Olympus BH2 acoplado a un equipo de digitalización de imágenes (DIGIPAT) (17) con objetivo 4X y se midieron los diámetros de 50 tubos seminíferos en cada animal. Se realizó además cariometría de 50 núcleos de las células intersticiales de Leydig en cada animal con un microscopio Karl Zeiss con objetivo 100 x, ocular 7 x y optovar 1.6 x, y se calculó el volumen nuclear mediante el programa MFT (18).

Los niveles de testosterona en el plasma sanguíneo fueron determinados por el método de radioinmunoanálisis (RIA), para el cual se empleó el kit TESTO-CT2 para tests in vitro de CIS Bio International. La lectura se realizó en un contador minigamma LKB-1275. Los valores fueron expresados en nmol/l.

Se calcularon los estadígrafos media y desviación estándar de todas las variables para cada grupo y condición, y se realizó un análisis de la varianza de dos vías cuyos efectos principales fueron el grupo y la condición, con inclusión del efecto de interacción para estudiar el efecto de la administración de alcohol y del tiempo sobre cada una de las variables. Este análisis se llevó a cabo mediante el software

comercial Systat 7.0. El nivel de significación estadística utilizado fue 0.05.

Resultados y Discusión

Las ratas sometidas a la ingestión crónica de etanol al 15 % durante 8, 16 y 24 semanas consumieron menos pienso, ingirieron menos líquido y tuvieron una menor ganancia de peso que sus respectivos controles (Tablas 1, 2 y 3), lo que coincide con lo reportado por Gómez (19) y pudo deberse al efecto depresor general de la actividad celular que ejerce el alcohol (20), lo que reduciría sus necesidades de líquido y de pienso, y también pudiera estar relacionado con el aporte calórico del alcohol, aunque sólo entre el 15 - 41 % es aprovechado (10). La menor ganancia de peso corporal en las ratas experimentales de los tres grupos está directamente relacionada con el menor consumo de pienso y líquido, y coincide con lo referido por otros autores (14, 19, 21, 22).

La ausencia de diferencias significativas en el peso de los testículos entre ratas experimentales y controles (Tabla 4) no concuerda con lo referido por otros autores, quienes reportan una reducción de la masa testicular y de más del 50 % de la masa de la próstata y de las vesículas seminales (14, 22).

En nuestro experimento, el tratamiento con alcohol no modificó los diámetros de los túbulos seminíferos (Fig. 1, Tabla 5). En este sentido es de notar que, los cambios encontrados por Gómez y Dovale (18) y por Gómez (19) tampoco fueron significativos, aunque en su experimento se empleó una concentración menor de etanol y también se administró un complemento vitamínico a las ratas.

La disminución del diámetro de los tubos seminíferos como consecuencia del consumo crónico de alcohol ha sido referida anteriormente por varios autores (14,

22-25), y relacionada con la pérdida de celularidad del epitelio germinativo, secundaria al déficit de testosterona (14, 23) o de ácido retinoico, ya que este se sintetiza a partir del retinol por la acción de las alcohol deshidrogenasas I y IV, enzimas que se encuentran afectadas por la inhibición competitiva que produce el etanol (26).

No se encontraron variaciones en el volumen nuclear de las células de Leydig (Fig. 2, Tabla 6), lo que se correspondió con la conservación de los niveles de testosterona observados en sangre (Tabla 7).

Nuestros resultados pueden estar en relación con la administración del complemento vitamínico, pues el mismo aportó, entre otras, una dosis de vitamina A que constituye más del doble de su requerimiento diario en humanos, la que pudo resultar suficiente para conservar el epitelio germinativo.

Conclusiones

La administración de etanol al 15 % en el agua de beber a ratas Wistar adultas macho, durante 8, 16 y 24 semanas, provocó una disminución del consumo de líquido, del consumo de pienso y de la ganancia de peso corporal que se relaciona con el aporte de calorías vacías de esta droga, sin afectar el peso de los testículos, el diámetro de los tubos seminíferos, el volumen nuclear de las células de Leydig ni los niveles séricos de testosterona, por lo que planteamos un posible efecto protector del complemento vitamínico Polivit contra las afectaciones del etanol sobre los testículos reportadas en la literatura.

Referencias Bibliográficas

1. de Kretser DM. Male infertility. The Lancet 1997; 349: 787-90.
2. Valdés Pacheco E. Alcoholismo un problema de salud en nuestro siglo. Rev Cub de MGI 1992; 8 (4): 374-78.
3. Mateos A, Feroso J, Agrasal C, Martín I, Paz-Bouza J, Tresguerres JA, et. al. Efecto del consumo crónico de alcohol sobre el eje hipotálamo-hipófiso-testicular en la rata. Rev Esp Fisiol 1987; 43 (1): 33-7.
4. Bestard Rodríguez A. Comportamiento del alcohol en el área de un consultorio médico de la familia. Rev Hosp Psiq de la Habana 1999; 11 (1): 26-8.
5. Chang M, Cañizares M, Sandoval JE, Bonet M, González R. Características del consumo de bebidas alcohólicas en la población cubana. Rev Hosp Psiq de la Habana 1998; 39 (3): 257-363
6. González R. SOS alcohol y otras drogas. Santiago de Cuba: Ed. Oriente, 1998: 144
7. Lin GW. Maternal-fetal folate transfer: effect of ethanol and dietary folate deficiency. Alcohol 1991; 8 (3): 169-72.
8. Villanueva JA, Devlin AM, Halsted CH. Reduced folate carrier: tissue distribution and effects of chronic ethanol intake in the micropig. Alcohol Clin Exp Res 2001; 25 (3): 415-20.
9. Conocimientos actuales sobre la nutrición. 7ma ed.. Publicación científica 565. O. P. S. 1998:584.

10. Cardellá L, Hernández R, Upman C, Vicedo A, Pérez A, Sierra S, et. al. Bioquímica Médica. Tomo IV. La Habana: Ed. Ciencias Médicas, 1999:1259-60.
11. Feinman L. Absorption and utilization of nutrients in alcoholism. *Alc Health and Res World* 1989; 13 (3): 207-210.
12. Lieber CS. Alcohol and Nutrition: An overview. *Alcohol Health and Research World* 1989; 13 (3): 197-205.
13. Cobb CF, Ennis MF, Van Thiel DH, Gavaler JS, Lester R. Acetaldehyde and alcohol are direct testicular toxins. *Surg Forum*. 1978;29:641-4.
14. Van Thiel DH, Gavaler JS, Cobb CF, Sherins RJ, Lester R. Alcohol-induced testicular atrophy in the adult male rat. *Endocrinology* 1979; 105 (4): 888-95.
15. Van Thiel DH, Gavaler JS, Lester R, Goodman MD. Alcohol-induced testicular atrophy. An experimental model for hypogonadism occurring in chronic alcoholic men. *Gastroenterology* 1975; 69 (2): 326-32.
16. Van Thiel DH, Lester R. Alcoholism: Its effects on hypothalamic pituitary gonadal function. *Gastroenterology* 1976; 71 (2): 318-27.
17. Coro Antich RM, Borrajero Martínez I. Digipat: Un sistema cubano para morfometría de imágenes. *Rev Latinoamer Patol* 1996; 34: 9-10.
18. Gómez A, Dovale A. El alcoholismo crónico en la morfología de estructuras testiculares en las ratas. *Rev CENIC Cienc Biol* 2000; 31(3): 181-183.
19. Gómez A. Efectos del consumo crónico de alcohol sobre el eje hipofisogonadal de la rata albina macho: estudio morfométrico. [Tesis para optar por el

- título de especialista de primer grado de Histología] Ciudad Habana: ICBP Victoria de Girón; 1998.
20. González Menéndez R. El alcoholismo y su atención específica. Ed Ciencias Médicas 1992. p. 136-37.
 21. Steiner JC, LaPaglia N, Hansen M, Emanuele NV, Emanuele MA. Effect of chronic ethanol on reproductive and growth hormones in the peripubertal male rat. *J Endocrinol* 1997; 154(2): 363-70.
 22. Calleja J. Alteraciones testiculares producidas por el alcohol. *Actas Urol Esp* 1997; 21 (4): 337-42.
 23. Adams ML, Meyer ER, Cicero TJ. Interactions between alcohol and opioid-induced suppression of rat testicular steroidogenesis in vivo. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21 (4): 684-90.
 24. Shirai T, Ikemoto I. Mechanism of alcoholic testicular damage. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 1992; 83 (3): 305-14.
 25. El-Sokkary GH. Quantitative study on the effects of chronic ethanol administration on the testis of adult male rat. *Neuroendocrinol Lett.* 2001; 22(2):93-9.
 26. Deltour L, Haselbeck RJ, Ang HL, Duester G. Localization of class I and class IV alcohol dehydrogenases in mouse testis and epididymis: potential retinol dehydrogenases for endogenous retinoic acid synthesis. *Biol Reprod* 1997; 56 (1): 102-109.

TABLA 1
Consumo diario de líquido (ml/Kg)
Media y desviación estándar. Análisis de la varianza

CONDICIÓN	GRUPO			ANÁLISIS DE LA VARIANZA	
	8 SEM.	16 SEM	24 SEM	F(g) = 5.678	p = 0.007
CONTROL	91.0 (17.7)	109.8 (32.2)	139.7 (41.4)	F(c) = 85.351	p = 0.000
	n = 8	n = 5	n = 5		
ALCOHOL	58.4 (8.3)	53.2 (7.7)	58.4 (3.5)	F(c * g) = 5.511	p = 0.008
	n = 8	n = 8	n = 8		

F: estadígrafo de la razón de las varianzas; g: grupo; c: condición (control y experimental); c * g interacción condición - grupo; p: probabilidad.

Tabla 2
Consumo promedio diario de pienso (gramos por Kg)
Media y desviación estándar. Análisis de la varianza

CONDICIÓN	GRUPO			ANÁLISIS DE LA VARIANZA	
	8 SEM.	16 SEM	24 SEM	F(g) = 16.938	p = 0.000
CONTROL	60.3 (3.1)	58.3 (4.3)	52.5 (2.6)	F(c) = 119.75	p = 0.000
	n = 8	n = 5	n = 5		
ALCOHOL	47.6 (6.3)	30.7 (2.5)	48.5 (4.9)	F(c * g) = 23.79	p = 0.000
	n = 8	n = 8	n = 8		

F: estadígrafo de la razón de las varianzas; g: grupo; c: condición (control y experimental); c * g interacción condición - grupo; p: probabilidad.

Tabla 3
Ganancia de peso (gramos) Media y desviación estándar. Análisis de la
varianza

CONDICIÓN	GRUPO			ANÁLISIS DE LA VARIANZA	
	8 SEM	16 SEM	24 SEM	F(g) = 8.720	p = 0.001
CONTROL	127.1 (29.8) n = 8	263.8 (35.0) n = 5	325.4 (54.3) n = 5	F(c) = 0.027	p = 0.870
ALCOHOL	86.3 (51.3) n = 8	228.5 (22.2) n = 8	269.2 (37.5) n = 8	F(g * c) = 1.787	p = 0.182

F: estadígrafo de la razón de las varianzas; g: grupo; c: condición (control y experimental); c * g interacción condición - grupo; p: probabilidad.

Tabla 4
Peso de los testículos (gramos) Media y desviación estándar. Análisis de la
varianza

CONDICIÓN	GRUPO			ANÁLISIS DE LA VARIANZA	
	8 SEM	16 SEM	24 SEM	F(g) = 8.720	p = 0.001
CONTROL	3.32 (0.62) n = 8	3.79 (0.36) n = 5	4.33 (0.33) n = 5	F(c) = 0.027	p = 0.870
ALCOHOL	3.68 (0.27) n = 8	3.7 (0.45) n = 8	4.05 (0.36) n = 8	F(g * c) = 1.787	p = 0.182

F: estadígrafo de la razón de las varianzas; g: grupo; c: condición (control y experimental); c * g interacción condición - grupo; p: probabilidad.

Tabla 5
Diámetro de los tubos seminíferos (μm) Media y desviación estándar.
Análisis de la varianza.

CONDICIÓN	GRUPO			ANÁLISIS DE LA VARIANZA	
	8 SEM	16 SEM	24 SEM	F(g)	p
CONTROL	206.8 (11.5)	190.5 (11.3)	209.1 (21.4)	F(c) = 0.279	p = 0.601
	n = 8	n = 5	n = 5		
ALCOHOL	191.9 (20)	189.1 (7.1)	218.1 (14.6)	F(g * c) = 2.345	p = 0.110
	n = 8	n = 8	n = 8		

F: estadígrafo de la razón de las varianzas; g: grupo; c: condición (control y experimental); c * g interacción condición - grupo; p: probabilidad.

TABLA 6
Volumen nuclear de células intersticiales de Leydig (μm^3) Media y desviación estándar. Análisis de la varianza.

CONDICIÓN	GRUPO			ANÁLISIS DE LA VARIANZA	
	8 SEM	16 SEM	24 SEM	F(g)	p
CONTROL	60.3 (7.2)	55.9 (3.6)	59.2 (4.2)	F(c) = 0.868	p = 0.358
	n = 8	n = 5	n = 5		
ALCOHOL	58.3 (7.8)	58.3 (5.7)	53.4 (5.7)	F(c * g) = 1.413	p = 0.256
	n = 8	n = 8	n = 8		

F: estadígrafo de la razón de las varianzas; g: grupo; c: condición (control y experimental); c * g interacción condición - grupo; p: probabilidad.

Tabla 7

**Concentración de testosterona en sangre (nmol/l) Media y desviación estándar.
Análisis de la varianza.**

CONDICIÓN	GRUPO			ANÁLISIS DE LA VARIANZA	
	8 SEM	16 SEM	24 SEM	F(g) = 0.099	p = 0.906
CONTROL	31.6 (12.9)	21.7 (2.7)	17.4 (15.5)	F(c) = 3.722	p = 0.061
	n = 8	n = 5	n = 5		
ALCOHOL	23.8 (20.4)	31.6 (10.5)	40.91 (13.9)	F(c * g) = 4.451	p = 0.019
	n = 8	n = 8	n = 8		

F: estadígrafo de la razón de las varianzas; g: grupo; c: condición (control y experimental); c * g interacción condición - grupo; p: probabilidad.

Fig. # 1 Tubos seminíferos de ratas del grupo de 16 semanas. Izquierda: control; derecha: alcohol. Coloración hematoxilina y eosina, aumento X 310.

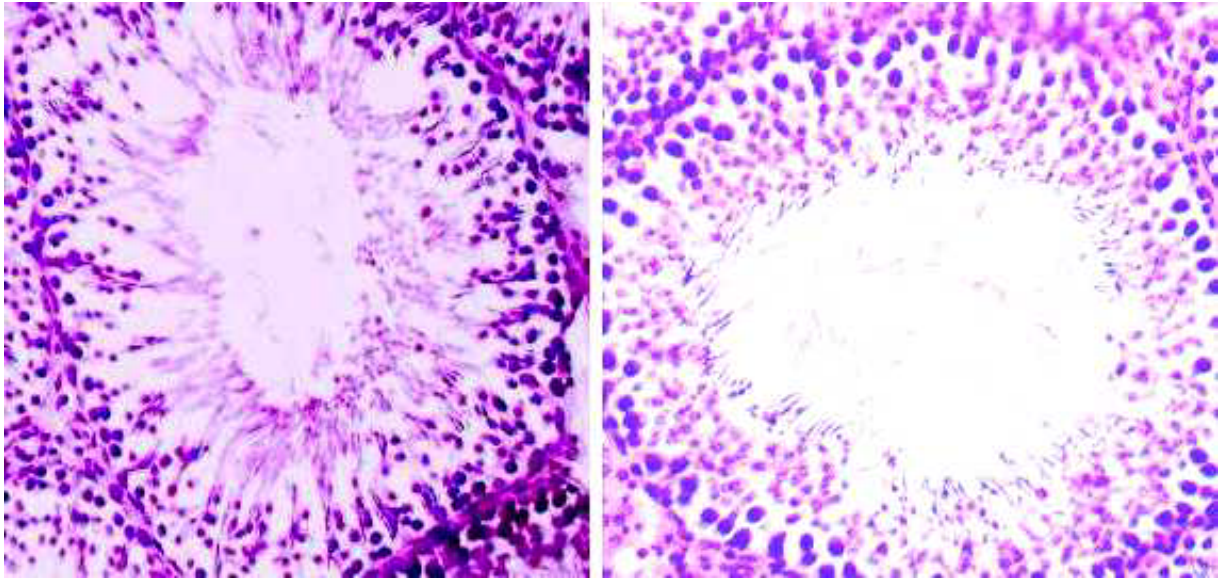


Fig. # 2 Células intersticiales de Leydig del grupo de 24 semanas. Izquierda: control; derecha: alcohol. Coloración hematoxilina y eosina. Aumento X 800.

