

I Klinika Położnicza. Instytut Położnictwa i Chorób Kobiecth,  
Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: doc. dr med. Henryk Zrubek

Marian SEMCZUK

**Intoksykacja alkoholowa a zawartość kwasu dezoksyrybonukleinowego  
w nasieniu męskim**

Алкогoльная интоксикация и содержание дезоксирибонуклеиновой кислоты  
в мужском семени

Alcohol Intoxication and the Level of Deoxyribonucleic Acid in Male Semen

Uważa się, że kwasy nukleinowe są podstawowym nośnikiem informacji genetycznej (3, 16, 17), a podstawowa ich ilość zawarta jest w DNA chromosomów jądra komórkowego. Są one również czynnikiem programującym syntezę ciał białkowych i powstających z nich enzymów (1, 3, 16, 17, 20). Strukturę DNA przedstawia się w postaci podwójnej spirali zbudowanej z czterech nukleotydów jak z cegiełek. W skład ich wchodzi zasady purynowe, pirymidynowe, kwas fosforowy i cukier — pentoza. Szczególną aktywność biologiczną i zasadniczą rolę przypisuje się kwasowi dezoksyrybonukleinowemu (DNA), który znajduje się zwłaszcza w chromosomach jądra komórkowego (4, 16). Kwas rybonukleinowy (RNA) spotyka się zarówno w jądrze komórkowym, jak i w cytoplazmie. W obrębie jednego gatunku wszystkie komórki ustrojowe, a w tym i plemniki, zawierają taki sam kwas nukleinowy, to znaczy kwas mający ten sam stosunek molarny adeniny, gwaniny, cytozyny i tyminy (11). Nie tylko skład, ale i ilość kwasu dezoksyrybonukleinowego w jądrze komórkowym wydaje się stała i charakterystyczna dla poszczególnych gatunków (4, 11).

Obniżoną płodność pewnych ssaków i człowieka łączono niekiedy z obniżoną ilością DNA w komórkach płciowych (5, 10), przy czym u osób płodnych zawartość tego kwasu w plemnikach jest zawsze stała, u niepłodnych stwierdza się zawsze niższe, zmienne wartości (10, 19). Królikowska-Prasał (8) stosując metodę histochemiczną oznaczania DNA podaje różną lokalizację tego kwasu w plemnikach osób z normo- i hipospermią. Casperson i Schultz badając kwasy nukleinowe metodą mikroskopii fluorescencyjnej stwierdzili wysoką zawartość DNA w komórkach ulegających szybkiemu podziałowi (2).

Zamenhoff i wsp. (21) byli pierwszymi, którzy donieśli o obecności dezoksyrybonukleazy w nasieniu ludzkim. Fakt, że DNA-za uwalnia zieleń metylenową związaną przez DNA dostarczył czułej metody dla oceny aktywności DNA-zy na-

sienia (9, 14). Tremolieres i Lowy (18) podają, że alkohol etylowy spożyty w dawkach wyższych niż 2 g/kg wagi może powodować degenerację kwasów nukleinowych w komórkach niektórych tkanek.

Mimo braku w chwili obecnej jednoznacznego stanowiska, czy alkohol etylowy może wywoływać zmiany w chromosomach, które są głównym składnikiem DNA — „materialnej podstawy dziedziczności” (16, 17), ciekawym wydawało się, czy zachodzą zmiany ilościowe zawartości kwasu dezoksyrybonukleinowego w plemnikach osób nałogowo pijących alkohol.

#### MATERIAŁ I METODYKA

Badaniu poddano 50 mężczyzn, których zależnie od czasu trwania nałogu alkoholowego podzielono na trzy grupy. Do grupy I zaliczono 25 mężczyzn, u których nałóg trwał 5 do 10 lat, do II — 15 mężczyzn, u których nałogowe spożywanie alkoholu trwało 11 do 15 lat i do III grupy 10 pacjentów, którzy nałogowo spożywali alkohol przez okres 16 do 25 lat. Wiek badanych mężczyzn wahał się w granicach 22—52 lat. Średnia wieku pacjentów grupy I wynosiła 33,5 lat, II — 41 lat i III — 41,1 lat.

U każdego pacjenta dwukrotnie oznaczano zawartość kwasu dezoksyrybonukleinowego w nasieniu w przeliczeniu na 1 milion plemników. Przerwy między badaniami wynosiły od 2 tygodni do 3 miesięcy. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej w oparciu o metody podane w podręczniku Halda (7) i Owena (13) i porównywano je z wynikami uzyskanymi u 20 zdrowych płodnych mężczyzn, którzy stanowili grupę kontrolną. Do ilościowego oznaczenia zawartości kwasu dezoksyrybonukleinowego użyto metody Orłowa i Orłowej, polegającej na reakcji barwnej D-dezoksyrybozy z odczynnikiem Dischego (12).

#### WYNIKI BADAŃ I ANALIZA STATYSTYCZNA

W grupie badanych mężczyzn, średni poziom kwasu dezoksyrybonukleinowego w nasieniu wynosił 10,27  $\mu\text{g}/1$  ml. plemników, a odpowiadająca wartość grupy kontrolnej wynosiła 10,67  $\mu\text{g}/1$  ml. plemników. Różnica średnich — 0,40  $\mu\text{g}/1$  ml. plemników okazała się statystycznie nieistotna  $F = 0,587$ ,  $F_{0,05} = 2,75$ ,  $P > 0,1$ . Rozrzut otrzymanych wartości w grupie badanych wynosił 3,46—18,90  $\mu\text{g}/1$  ml. plemników, zaś średnie wartości w poszczególnych grupach badanych pacjentów przedstawiały się następująco: I grupa — 10,66  $\mu\text{g}/1$  ml. plemników, II — 9,24, oraz III grupa — 10,92  $\mu\text{g}/1$  ml. plemników.

Porównując średnie wartości uzyskane w poszczególnych grupach z odpowiadającą wartością grupy kontrolnej (10,76  $\mu\text{g}/1$  ml. plemników) otrzymano dla grupy I różnicę wynoszącą 0,01,  $t = 0,01$ ,  $t_{0,05} = 2,02$ ,  $P > 0,05$ , dla grupy II — 1,23,  $t = 1,06$ ,  $t_{0,05} = 2,03$ ,  $P > 0,05$ , oraz dla grupy III różnicę wynoszącą 0,25, a  $t = 0,12$ ,  $t_{0,05} = 2,05$ ,  $P > 0,05$ . Różnice średnich we wszystkich powyżej analizowanych przypadkach są statystycznie nieistotne  $P > 0,05$ .

Tab. 1. Stężenie kwasu dezoksyrybonukleinowego w plemnikach (w  $\mu\text{g}/1$  mln plemn.)  
Deoxyribonucleic acid level in spermatozoa (in  $\mu\text{g}$  per 1 mln spermatozoa)

Alkoholicy	Liczba badanych	Zasięg wartości		Średnia	Odchylenie standardowe	Istotność różnic w odniesieniu do grupy kontrolnej		
		od	do			Różnica średnich	„t”	Wartość funkcji Prawdopodobieństwo P
I grupa	25	5,44	18,90	10,66	3,75	0,01	0,01	$> 0,05$
II grupa	15	5,86	15,90	9,24	2,89	1,23	1,61	$> 0,05$
III grupa	10	3,46	15,75	10,92	4,52	0,25	0,12	$> 0,05$

Porównując średnie wartości uzyskane w poszczególnych grupach między sobą okazało się, że zarówno różnica między wartościami grupy I i II wynosząca 1,42  $\mu\text{g}/1$  mil. plemników, oraz między grupą II i III — 1,68 na korzyść grupy III stanowią wartości statystycznie nieistotne (tab. 1).

Zwraca uwagę jedynie duży rozrzut wartości otrzymanych w poszczególnych grupach badanych i tak w grupie I od 5,44  $\mu\text{g}/1$  mil. plemników do 18,90, w grupie II od 5,86 do 15,90, oraz w III — 3,46 do 15,75  $\mu\text{g}/1$  mil. plemników.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Na podstawie własnego materiału w grupie badanych mężczyzn średni poziom kwasu dezoksyrybonukleinowego w nasieniu wynosił 10,27  $\mu\text{g}/1$  mil. plemników, przy czym różnica między tą wartością a odpowiadającą jej w grupie kontrolnej, wynosząca 0,40  $\mu\text{g}/1$  mil. plemników okazała się statystycznie nieistotna. Analizując zachowanie się średniej wartości DNA w poszczególnych grupach badanych pacjentów stwierdzono, że różnice między tymi wartościami a odpowiadającą im wartością grupy kontrolnej były nieznaczne, statystycznie nieistotne. Zwraca uwagę jedynie rozrzut wartości otrzymanych w poszczególnych grupach, jak i w grupie kontrolnej.

Tynecki i wsp. stosując metodę chemiczną do oznaczania stężenia kwasu dezoksyrybonukleinowego w nasieniu ludzkim wykazali, że istnieje zależność względnie proporcjonalna pomiędzy zawartością DNA a liczbą plemników w 1 ml nasienia (19). W badaniach na zwierzętach stwierdzono, że jednorazowa, ostra intoksykacja alkoholowa powoduje zmniejszenie ilości i nieprawidłowe rozmieszczenie kwasów nukleinowych w komórkach wątroby (6).

Na podstawie przeprowadzonych analiz wydaje się, że przewlekła intoksykacja alkoholowa nie wpływa na zawartość kwasu dezoksyrybonukleinowego w męskich komórkach rozrodczych, a jego ilość w poszczególnych próbach nasienia jest różna, ale proporcjonalna do liczby plemników w 1 ml nasienia. Wartym podkreślenia jest fakt, że na podstawie oznaczeń DNA w badanych próbach nasienia należy bardzo ostrożnie oceniać prawidłowość i dojrzałość plemników. Sama metoda badania chociaż powtarzalna zakłada pewną względność. Trzeba się liczyć z tym, że pewną ilość oznaczonych wartości może stanowić pozaplemnikowy DNA, szczególnie w stanach zapalnych dróg wyprowadzających i dodatkowych gruczołów płciowych bowiem zawierają go też nabłonki, leukocyty i bakterie. Elementy te mogą występować w pewnych ilościach w każdym, najbardziej prawidłowym nasieniu. Dlatego też u wszystkich badanych pacjentów starano się wykluczyć drogą badań stan zapalny w obrębie dróg płciowych.

Otrzymane średnie wartości kwasu dezoksyrybonukleinowego w badaniach własnych są nieco wyższe od wartości podawanych przez innych autorów. Zarówno Dubinin, jak i Rodkiewicz (15) podają, że jądro haploidalnej komórki człowieka (jądro, komórka jajowa) zawiera  $3-4 \times 10^{-12}$  g DNA. Nieco wyższe wartości DNA w plemnikach otrzymane w badaniach własnych należy łączyć z lokalnymi warunkami oraz metodą stosowaną do oznaczeń. Wahania liczby plemników w 1 mililitrze nasienia badanych alkoholików są prawdopodobnie odpowiedzialne za obserwowany rozrzut wartości DNA w poszczególnych grupach badanych.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Borkowski T.: Kwasy nukleinowe w centralnym układzie nerwowym Pol. Tow. Bioch. Warszawa 1962.
2. Casperson T., Schultz J.: *Nature*. **143**, 602—605, 1939.
3. Davidson J. N.: *Biochemia kwasów nukleinowych*. PWRiL, Warszawa 1969.
4. Davies D. V., Manu T., Rowson L. E. A.: *Proc., Roy., Soc.* **147**, 332—337, 1957.
5. Doepfner R.: *Bull. Soc. Roy. Belge. Gyn. Obst.* **32**, 201—205, 1962.
6. Eletzki J. T.: *Arch. Anat.* **48**, 58—61, 1965.
7. Hald A.: *Statistical Theory with Engineering Applications*. J. Wiley. N. Y. 1952.
8. Królikowska - Prasał I.: *Pol. Tyg. Lek.* **28**, 1078—1081, 1964.
9. Laskowski M.: Deoxyribonucleases. In the *Enzymes*. Acad. Press. N. Y. **5**, 123, 1961.
10. Leuchtenberger C., Weir B. R., Schrader F., Murmanis L.: *J. Lab. Clin. Med.* **45**, 851—856, 1955.
11. Mann T.: *Biochemia nasienia*. PWRiL, Warszawa 1958.
12. Orłowa A. S., Orłowa E. J.: *Biochimia*, **26**, 834—838, 1961.
13. Owen D. B.: *Handbook of Statistical Tables*. Addison-Wesley-Reading. N. Y. 1962.
14. Quinn P. J.: *J. of Reprod and Fert.* **17**, 35—39, 1968.
15. Rodkiewicz B.: *Zarys genetyki*. PWN, Warszawa 1971, 296—297.
16. Stahl F. W.: *The Mechanics of Inheritance*, Englewood Cliffs. N. Y. 1964.
17. Taylor J. M.: *Molecular Genetics*. I. N. Y. 1963.
18. Tremolieres J., Lowy R.: *Actual. Pharmacol.* **17**, 191—197, 1964.
19. Tynecki J., Żrubek H., Boczkowski Z., Boraczyński H., Choma M., Robak K.: *Pol. Tyg. Lek.* **20**, 716—718, 1965.
20. Wald J.: *Podstawy molekularne bloków metabolicznych*. *Neurol. Neurochir. Psych. Pol.* **3**, 218—222, 1966.
21. Zamenhof S., Shettles L. B., Chargaff E.: *Nature*, **165**, 765—780, 1950.

Otrzymano 8 III 1973.

#### РЕЗЮМЕ

Исследованию подвергли 50 мужчин, которых, в зависимости от продолжительности алкоголизма, разделили на три группы. В каждом случае дважды определяли уровень дезоксирибонуклеиновой кислоты в

семени в пересчете на 1 миллион сперматозоидов. Для количественного обозначения содержания дезоксирибонуклеиновой кислоты применили метод Орлова и Орловой. Полученные результаты подвергли статистическому анализу, сравнивая их с соответствующими величинами у 20 здоровых мужчин, которые составляли контрольную группу.

На основании проведенных анализов можно полагать, что затяжная алкогольная интоксикация не влияет на изменение содержания дезоксирибонуклеиновой кислоты в мужских половых клетках.

#### S U M M A R Y

Fifty men were investigated. They were divided into three groups according to the duration of alcoholism. The level of deoxyribonucleic acid was determined in semen calculated in  $\mu\text{g}$  per 1 million spermatozoous twice in every case. The method of Orłowa and Orłow was used for the quantitative determination of the deoxyribonucleic acid level. The results were subjected to a statistical analysis by comparison with levels in 20 healthy men.

According to the obtained results we can conclude, that a chronic alcohol intoxication does not influence the deoxyribonucleic acid in male spermatozoa.