



## Površine ljudskih zavijenih sjemenskih kanalića u sindromu „samo Sertolijevih stanica“

Ljerka Banek i Jasminka Posinovec

Zavod za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta Zagreb

Izvorni znanstveni rad

UDK 616.697

Prispjelo: 12. studenoga 1985.

U ovom radu stereološki smo istraživali biopsije testisa neplodnih ljudi sa sindromom »samo Sertolijevih stanica« (15 sa azoospermijom i 5 sa oligozoospermijom). Testisi 10 zdravih ljudi poslužili su kao kontrolna skupina. Odredili smo vrijednost vanjske površine tunike proprije zavijenih sjemenskih kanalića, te vanjske i unutarnje površine epitela sjemenskih kanalića: a) u 1 mm<sup>3</sup> tkiva, b) u čitavom testisu.

U 1 mm<sup>3</sup> tkiva neplodnog testisa niti jedna od istraživanih površina nije se značajno razlikovala od onih u zdravih testisa ( $P > 0,05$ ). Suprotno tome, u cijelom testisu sve tri gore spomenute ukupne površine bile su značajno manje od onih u kontrolnoj skupini ( $P < 0,01$ ).

**Ključne riječi:** površine ljudskih sjemenskih kanalića — sindrom »samo Sertolijevih stanica«

Prilikom analiziranja histoloških preparata testisa zdravih, kao i neplodnih ljudi, dolazi do teškoća u pravilnom interpretiranju nalaza zbog različitih subjektivnih kriterija, a i varijacija građe. Isto tako i kod uspoređivanja nalaza dolazi katkada do teškoća. Zbog toga je potreba za primjenom objektivnih kriterija u proučavanju strukture normalnog i abnormalnog testisa postala neophodna.

Za ocjenu stadija razvitka i funkcije testisa glavni kriterij je veličina zavijenih sjemenskih kanalića.<sup>8</sup> Jedan od parametara veličine zavijenih sjemenskih kanalića je njihova površina, odnosno površine pojedinih ploha kanalića.<sup>8</sup> Pomoću stereoloških metoda, Lanz i Neuhäuser (1963)<sup>7</sup> su ustanovili da ukupna vanjska površina epitela sjemenskih kanalića za pojedini testis zdravog muškarca, između 20—30-te godine života iznosi 2000—2500 cm<sup>2</sup>. Nakon 30-te godine života vanjska površina epitela se postepeno smanjuje te u staraca može iznositi svega 400—600 cm<sup>2</sup>.

Upravo ovo smanjenje vanjske površine sjemenskog epitela u starosti bilo je poticajem da pristupimo kvantitativnom stereološkom istraživanju u neplodnih ljudi. Ovo tim više što u pristupačnoj literaturi nigdje nismo našli podatak da je netko već o tome izlagao. Odlučile smo analizirati površine svih ploha sjemenskih kanalića, tj. vanjske i unutarnje plohe sjemenskog epitela i vanjske plohe tunike proprije u sjemenskim kanalićima koji su pokazivali oštećenje spermatogeneze pod nazivom: sindrom »samo Sertolijevih stanica«.

### MATERIJAL I METODE

#### Materijal i priprema tkiva

Analizirali smo biopsije testisa 20 neplodnih ljudi (od toga 15 sa azoospermijom i 5 sa oligozoospermijom). Dob pacijenata bila je 23—42 godine. Biopsije su uzete po metodi koju je opisao Charny.<sup>3</sup> Histološki nalaz svih bolesnika pokazivao je sindrom »samo Sertolijevih stanica«, tj. sjemenski epitel sačinjavale su samo Sertolijeve stanice, dok su zametne stanice nestale iz njega (slika 1). Kao kontrolna

skupina poslužili su nam testisi desetero ljudi (u dobi od 25—45 godina) dobiveni obdukcijom, koja je vršena 5—10 sati nakon nenadane smrti (prometne nesreće) (slika 2).

Prije uzimanja bioptičkog materijala, u 16 pacijenata izmjerena je dužina, širina i debljina istraživanih testisa (kaliper). Makroskopske dimenzije testisa također su izmjerene na isti način u 10 ljudi kontrolne skupine (tablica 1).

Tkivo svih istraživanih testisa fiksirano je u Gendreu, uklpoljeno u parafin, te serijski rezano na 7 μm. Rezovi su obojeni hemalaun-eozinom. Sve analize izvršene su na binokularnom mikroskopu Zeiss kod ukupnog povećanja od 300 puta. Za stereološku analizu upotrijebljen je integracijski okular (Wild Heerburgg), s mnogonamjenskim testnim sistemom po Weibelu (s 42 točke).

#### Stereološka analiza

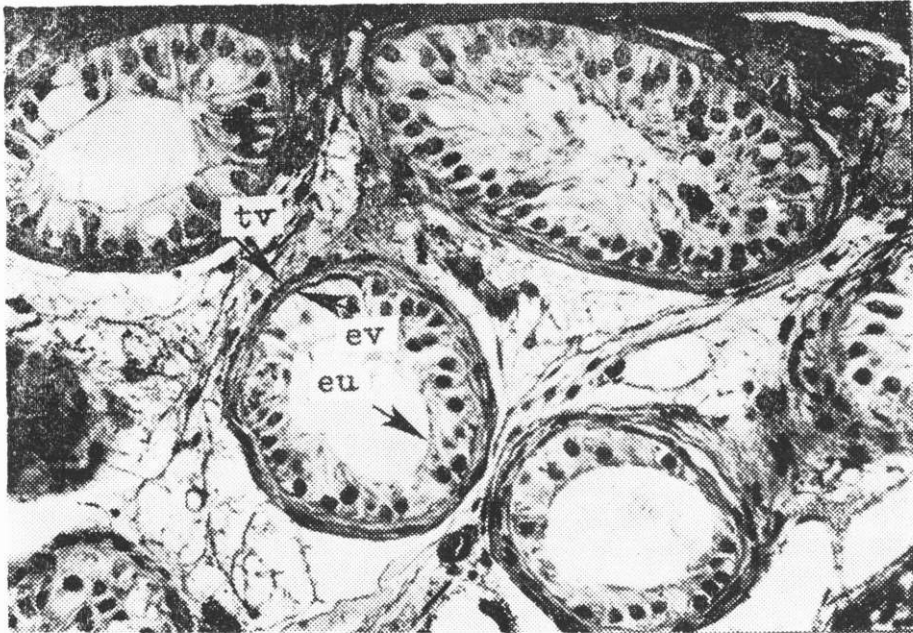
U odraslih ljudi sjemenski kanalići su građeni od tunike proprije, sjemenskog epitela i lumena. Na histološkim rezovima tkiva testisa mogu se vidjeti konture triju površina sjemenskih kanalića:

- vanjska površina tunike proprije kanalića (tv)
- vanjska površina sjemenskog epitela, tj. granica tunike proprije prema epitelu (ev)
- unutarnja površina sjemenskog epitela, tj. granica epitela prema lumenu (eu) (slika 1, 2).

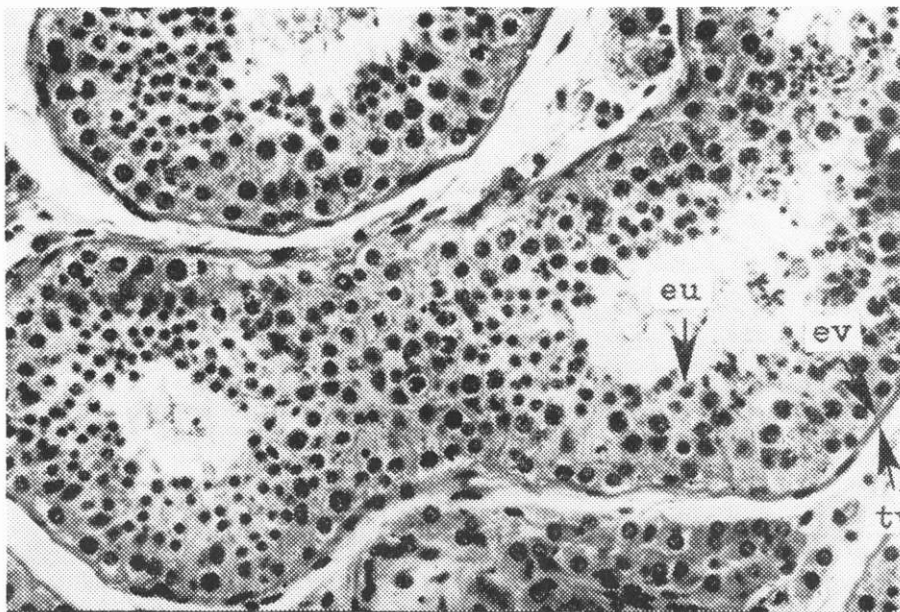
U ovom materijalu analizirali smo tri spomenute površine sjemenskih kanalića stereološkim metodama. Odredili smo slijedeće parametre:

a) Površine sjemenskih kanalića u 1 mm<sup>3</sup> tkiva ( $S_{tv}$ ,  $S_{ev}$ ,  $S_{eu}$ ) (mm<sup>2</sup>/mm<sup>3</sup>). Prema Kališniku (1982),<sup>6</sup> površina neke strukture u jedinici volumena tkiva (površinska gustoća) može se izračunati iz broja intersekcija ( $I_i$ ) između linija testnog sistema određene dužine ( $L_T$ ) i obrisa te površine:

$$S_V = \frac{2 I_i}{L_T} \quad (1)$$



**SLIKA 1.**  
Sindrom »samo Sertolijevih stanica«. Strelice označavaju površine triju ploha u zavijenim sjemenskim kanalićima. Dob bolesnika je 36 godina.  
(H-E 250 ×)



**SLIKA 2.**  
Zdravi zavijeni sjemenski kanalići muškarca starog 29 godina. Površine triju ploha u kanalićima označene vrškom strelica.  
(H-E 250 ×)

**TABLICA 1.**  
**Dimenzije testisa i izračunati volumen organa**

Skupina	Dužina cm	Sirina cm	Debljina cm	Volumen cm <sup>3</sup>
Kontrolna	4,6±0,1	3,3±0,1	2,2±0,1	17,7±1,4
Samo Sertolijeve stanice	3,2±0,2	2,0±0,2	1,6±0,2	6,4±1,4

Sve vrijednosti izražene su kao aritmetička sredina ( $\bar{x}$ )±1 standardna greška (SE)

**TABLICA 2.**  
**Površine zavijenih sjemenskih kanalića u 1 mm<sup>3</sup> tkiva (S<sub>v</sub>)**

Skupina	Vanjska površina tunike proprije S <sub>Vtv</sub> mm <sup>2</sup> /mm <sup>3</sup>	Vanjska površina epitela S <sub>Vev</sub> mm <sup>2</sup> /mm <sup>3</sup>	Unutarnja površina epitela S <sub>Veu</sub> mm <sup>2</sup> /mm <sup>3</sup>
Kontrola	15,87±0,41	15,01±0,42	7,53±0,28
Samo Sertolijeve stanice	16,92±0,76	13,40±0,61	7,80±0,47

Sve vrijednosti izražene su kao aritmetička sredina ( $\bar{x}$ )±1 standardna greška (SE)

**TABLICA 3.**  
**Ukupne površine zavijenih sjemenskih kanalića u cijelom testisu (S)**

Skupina	Vanjska površina tunike proprije S <sub>tv</sub> cm <sup>2</sup>	Vanjska površina epitela S <sub>ev</sub> cm <sup>2</sup>	Unutarnja površina epitela S <sub>eu</sub> cm <sup>2</sup>
Kontrola	2796±210	2634±190	1317±128
Samo Sertolijeve stanice	1041±235	824±190	465±96

Sve vrijednosti izražene su kao aritmetička sredina ( $\bar{x}$ )±1 standardna greška (SE)

Tri površine sjemenskih kanalića u 1 mm<sup>3</sup> tkiva odredili smo brojanjem intersekcija između njihovih obrisa i testne linije (L<sub>T</sub>) (slika 1, 2). Zatim smo uvrstili dobivene vrijednosti u jednadžbu (1). U svakom testisu intersekcije su izbrojene u 60 nasumce izabranih polja (ukupno 1800 polja u cijelom materijalu).

b) Ukupne površine sjemenskih kanalića u čitavom testisu (S<sub>tv</sub>, S<sub>ev</sub>, S<sub>eu</sub>) (cm<sup>2</sup>).

Ukupna površina istraživane strukture tkiva (S) za cijeli organ može se izračunati iz formule (Kališnik, 1982)<sup>6</sup>:

$$S = S_v V \quad (2)$$

gdje je S<sub>v</sub> površina neke strukture u jedinici volumena organa (površinska gustoća), a V je volumen čitavog organa. Prema jednadžbi (2) odredili smo ukupnu površinu:

1) vanjske površine tunike proprije sjemenskih kanalića (tv)

2) vanjske površine epitela sjemenskih kanalića (ev)

3) unutrašnje površine epitela sjemenskih kanalića (eu)

za čitav testis (slika 1, 2). Ove parametre izračunali smo za 26 muškaraca. U tih ljudi izmjerili smo dužinu, širinu i debljinu istraživanih testisa. Volumen testisa (V) izračunali smo iz ovih makroskopskih dimenzija primjenom formule za volumen elipsoida (Ahmad i suradnici, 1969)<sup>7</sup>:

$$V = \frac{\pi}{6} d_1 d_2 d_3 \quad (3)$$

U ovoj formuli d<sub>1</sub> odgovara dužini, d<sub>2</sub> širini, a d<sub>3</sub> debljini testisa. To je načinjeno zato što se u neplodnih muškaraca testisi ne mogu izvaditi da bi im se odredio volumen mjerenjem u menzuri.

#### Statistička analiza

Rezultate koje smo dobili stereološkom analizom i izračunavanjem, obradili smo statistički. Izračunali smo aritmetičku sredinu ( $\bar{x}$ ) i standardnu grešku (SE).

Značajnost razlike vrijednosti triju površina zavijenih sjemenskih kanalića u 1 mm<sup>3</sup> tkiva (S<sub>Vtv</sub>, S<sub>Vev</sub>, S<sub>Veu</sub>), te u čitavom organu (S<sub>tv</sub>, S<sub>ev</sub>, S<sub>eu</sub>) za testise sa sindromom »Samo Sertolijevih stanica« i kontrolne skupine, testirali smo Studentovim »t« testom.

#### REZULTATI

Vrijednosti površina u 1 mm<sup>3</sup> tkiva i to: vanjske površine tunike proprije sjemenskih kanalića (S<sub>Vtv</sub>), te vanjske (S<sub>Vev</sub>) i unutarnje (S<sub>Veu</sub>) površine epitela kanalića sa sindromom »samo Sertolijevih stanica« i kontrolne skupine, prikazane su na tablici 2. U testisima proučavane patološke skupine niti jedna od istraživanih površina sjemenskih kanalića nije se u 1 mm<sup>3</sup> tkiva značajno razlikovala od zdravih kontrolnih (P>0,05).

Ukupne površine triju ploha u zavijenim sjemenskim kanalićima u cijelom testisu (S<sub>tv</sub>, S<sub>ev</sub>, S<sub>eu</sub>) istraživane i kontrolne skupine prikazane su na tablici 3. Sve tri ispitivane ukupne površine bile su u testisima pacijenata sa sindromom »samo Sertolijevih stanica« značajno manje od kontrolne skupine (P<0,01).

#### RASPRAVA

Za razliku od dužine, površina zavijenih sjemenskih kanalića je rjeđe određivani parametar u testisu. Odovarajuća ukupna površina ploha zavijenih sjemenskih kanalića potrebna je za ispravnu prehranu sjemenskog epitela, te za normalno odvijanje spermatogeneze. Zbog toga što su sjemenske stanice prilikom diobe i dozrijevanja međusobno povezane međustaničnim mostićima,<sup>5</sup> trebaju odgovarajuću površinu na kojoj leže. Na taj način je omogućeno da uz jednaku ishranu u određenom času sinhrono dozrijevaju odgovarajući broj spermija.<sup>5</sup>

Van Dop i suradnici (1980) izračunali su vrijednost vanjske površine tunike proprije zdravih ljudskih zavijenih sjemenskih kanalića u 1 mm<sup>3</sup> tkiva.<sup>4</sup> U našem prethodnom radu također na zdravim ljudskim testisima, nadopunili smo podatke spomenutih autora.<sup>2</sup> Izračunali smo vrijednost unutarnje i vanjske

površine sjemenskog epitela zdravih ljudskih zavijenih sjemenskih kanalića u 1 mm<sup>3</sup> tkiva.<sup>2</sup> Isto tako odredili smo ukupnu površinu triju ploha kanalića u čitavom testisu.<sup>2</sup>

Međutim, kako smo već naveli, u pristupačnoj literaturi nismo mogli naći bilo kakvih kvantitativnih podataka o površinama zavijenih sjemenskih kanalića neplodnih muškaraca. Rezultati istraživanja u ovom radu pokazuju da se niti jedna od triju proučavanih površina kanalića u 1 mm<sup>3</sup> tkiva neplodnih testisa, sa sindromom »samo Sertolijevih stanica«, nije značajno razlikovala od zdravih. Suprotno tome, sve tri ukupne površine kanalića u cijelom testisu (sa spomenutim oštećenjem) bile su značajno manje od kontrolne skupine. Smanjenje triju površina sjemenskih kanalića je kvantitativni dokaz njihove atrofije. Ovaj rezultat je u skladu s radom Lanza i Neuhäusera (1963),<sup>7</sup> koji su na obdukcijском materijalu staračkih testisa također našli smanjenje ukupne površine epitela kanalića. Ovo smanjenje ukupne površine također je posljedica atrofije zavijenih sjemenskih kanalića i testisa u starosti.

Ovdje, međutim, treba naglasiti da se našom metodologijom omogućava kvantitativni dokaz atrofije kanalića u živih ljudi. Vrijednosti ukupnih površina kanalića dobili smo poznavanjem volumena testisa. Njega smo izračunali iz izmjerenih makroskopskih dimenzija: dužine, širine i debljine. Ta metoda ne zahtijeva vađenje testisa iz tijela. Zato je prikladna za kvantitativnu analizu biopsija ljudskih testisa kod različitih oblika neplodnosti.

Upada u oči razlika rezultata u mm<sup>3</sup> tkiva u odnosu na nalaze u testisu in toto. Oni, naime, u 1 mm<sup>3</sup> ne daju nikakvih signifikantnih podataka, dok u testisu in toto — postoji izrazito smanjenje površina. To smo protumačili činjenicom koja je očigledna, a ta je da 1 mm<sup>3</sup> — nije dovoljno velik volumen unutar kojeg bi dobiveni rezultati mogli biti od koristi. Međutim, uz dodatak makroskopskog mjerenja — dobivamo vrlo jasne i precizne podatke.

## ZAKLJUČAK

Strukturne promjene površine pojedinih ploha zavijenih sjemenskih kanalića testisa neplodnih ljudi sa sindromom »samo Sertolijevih stanica« mogu se precizno kvantitativno prikazati pomoću stereoloških metoda.

U testisima sa spomenutim oštećenjem ukupna vrijednost vanjske površine zavijenih sjemenskih kanalića, te vanjske i unutarnje površine njihovog epitela, bile su u cijelom organu značajno manje nego u kontrolnoj skupini ( $P < 0,01$ ). Ovo smanjenje triju ukupnih površina kanalića je kvantitativni dokaz njihove atrofije.

U živih ljudi, vrijednosti površina pojedinih ploha u zavijenim sjemenskim kanalićima u 1 mm<sup>3</sup> tkiva, kombinirane s volumenom organa izračunatim iz makroskopskih dimenzija, omogućuju izračunavanje ukupnih površina kanalića u cijelom testisu.

Primjena objektivnih mjerenja testisa zajedno s kvantitativnom stereološkom analizom biopsija mogla bi dati bolji uvid u stupanj oštećenja kod različitih poremećaja čovjekove plodnosti.

## LITERATURA

1. Ahmad KN, Lennox B, Mack WS. Estimation of the volume of Leydig cells in man. *Lancet* 1969;2:461.
2. Banek Lj, Posinovec J. Relativne i apsolutne površine zavijenih sjemenskih kanalića čovjeka. II memorijalni sastanak »Teodor Varićak«, 1984.
3. Charny CW. Testicular biopsy. Its value in male sterility. *JAMA* 1940;115:1429.
4. Van Dop PA, Scholttmeyer RJ, Kurver PHJ, Baak JPA, Oort J, Stolte LA. A quantitative structural model of the testis of fertile males with normal sperm counts. *Int J Androl* 1980;3:153.
5. Dym M, Fawcett DW. Further observations on the numbers of spermatogonia, spermatocytes and spermatids connected by intercellular bridges in the mammalian testis. *Biol Reprod* 1971;4:195.
6. Kališnik M. Temelji stereologije. *Stereol Jugosl* 1982; Supl II 3:34.
7. Lanz T, Neuhäuser G. Metrische Untersuchungen an den Tubuli contortri des menschlichen Hodens. *Z Anat Entwickl Gesch* 1963; 123:462.
8. Weisbach L, Ibach B. Quantitative parameters for light microscopic assessment of the tubuli seminiferi. *Fertil Steril* 1976; 27:836.

## Abstract

### THE SURFACES OF THE HUMAN CONVOLUTED SEMINIFEROUS TUBULES IN »SERTOLI CELLS ONLY« SYNDROME

Ljerka Banek and Jasminka Posinovec

Institute of Histology and Embryology, Faculty of Medicine Zagreb

In this work testicular biopsies of infertile men with »Sertoli cells only« syndrome (15 azoospermic and 5 oligozoospermic ones) as well as control testicles of 10 health men were sterologically investigated. We have determined the values of outer surface of seminiferous tubules tunica propria and also

the outer and inner surface of seminiferous tubules epithelium: a) per cubic millimeter of tissue; b) for the whole testicles.

Per cubic millimeter of tissue none of the investigated surfaces was significantly different from the healthy controls ( $p > 0,05$ ). On the contrary, in all testicles all three above mentioned total surfaces were significantly reduced in respect to the control group ( $p < 0,01$ ).

**Key words:** seminiferous tubules surfaces — infertility, male — testis

**Received:** November 12, 1985