

49872

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SİALOADENEKTOMİ VE FLUTAMİDE'İN TESTİS VE EPİDİDİMİS
DOKUSU ÜZERİNDE OLUŞTURDUĞU HİSTOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER**

(DOKTORA TEZİ)

T 49872

Arş.Gör.M.Aydın KETANİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof.Dr.Yusuf NERGİZ

T.C. YÜCEYAKETİM KURULU
T.C. ENSTİTASYON MERKEZİ

DİYARBAKIR-1996

TEŞEKKÜR

Doktora yöneticiliğimi üstlenen, doktora öğrenimim süresince ve tezimin oluşturulmasında bilgi ve desteğini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanı Hocam sayın Prof.Dr.Yusuf NERGİZ 'e, Anabilim Dalındaki Hocalarıma, kesitlerin alınmasında emeği geçen,Teknisyen Rıza AKIN'a, Deneysel çalışmalarım ve cerrahi girişimler sırasında yardımlarını benden esirgemeyen Çocuk Cerrahi Kliniğinden Dr.Mehmet ÖZER'e DÜSAM Müdürlüğünde beraber görev yaptığım;Yrd.Doç.Dr.Ahmet ERSAY'a,Arş.Gör.Ö.Mukaddes ŞAHAN ve Mustafa DENİZ'e ve DÜSAM personellerine, Doktora tezimin istatistiksel analizlerin yapılmasında yardımcı olan Biyoistatistik Anabilim Dalı Arş.Gör.Arif ŞAHİN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Arş.Gör. M. Aydın KETANİ



İÇİNDEKİLER

GİRİŞ.....	1-7
MATERYAL VE METOD.....	8-9
BULGULAR.....	10-34
TARTIŞMA.....	35-39
SONUÇ.....	39
ÖZET.....	40-41
SUMMARY.....	42-43
KAYNAKLAR.....	44-46

GİRİŞ

Glandula Submandibularis ile Epidermal Growth Faktör (EGF) İlişkisi

EGF en yüksek konsantrasyonda tükürük bezleri sonra sırasıyla glandula vezikuloza, karaciğer, testis, böbrek gibi organlarda bulunur. Ratlardaki submandibular tükürük bezi,epidermal growth faktörün yegane kaynağıdır. EGF 6000 Dalton,53 aminoasit polipeptid ve membran morfolojik değişikliklerin geniş bir hücrel cevap değişkenliğini ihtiva etmektedir. EGF transport sistemindeki aktivasyon farklılıkları ve mitojenezisin uyarılmasına ilaveten hücrel metabolizmadaki değişiklikleri etkindir (1).

Androjenler,progestin gibi hormonlar ve adrenerjik ajanlar EGF'nin submandibular bezdeki üretim ve dolaşımdaki düzeyini düşürürler.EGF'nin fizyolojik rolü tam olarak belli olmasada EGF kültürlerinde farklı tür memeli hücrelerin proliferasyonunu artırır ve bazı hücre kültürlerinde farklılaşmış fonksiyonlar pozitif ve negatif modilatörü gibi iş görürler.Submandibular bezi çıkarılmış dişi ratlarda meme bezlerinin gelişimi ve tümörlerin oluşmasında fizyolojik bir rol oynar. EGF' nin gebe farelerin meme epitelinin proliferasyonu üzerinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir.Gebelik öncesi,gebelik dönemi, laktasyon ve laktasyondan sonraki dönemlerde idrar,plazma,submandibular bezde EGF düzeyi ve fizyolojik rolü üzerine çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalara paralel olarak sialoadenektomi uygulanan gebe ve laktasyondaki farelerin biyolojik sıvıları ile submandibular bezleri EGF düzeyleri arasındaki ilişki ortaya çıkarıldığına dair çalışmalar mevcuttur (2).

Erkek ratların submandibular bezinin dişi hayvanlarınkine oranla daha fazla EGF ürettiği anlaşılmıştır. Sialoadenektomi'den sonra, plazma EGF düzeyinin hızla düştüğü ve 3. haftanın sonunda tespit edilemez seviyede olduğu gözlenmiştir. Bu durum,submandibular bezin dolaşımdaki EGF' nin bir kaynağı olduğunu göstermektedir (1).

EGF'nin spermatogenezis üzerindeki mekanizması tam olarak bilinmemektedir.Ancak spermatositlerdeki mayoz bölünmeyi direk olarak stimüle edebilir.İndirek olarak testislerdeki Sertoli hücrelerini spermatogenezis ve diğer endokrin organları stimüle ederek etki göstermektedir (3).Sialoadenektomi yapılan erkek farelerde periferel EGF yokluğuna bağlı olarak sperm sayısında % 45 oranında düşüş saptanmıştır. Sialoadenektomi, FSH ve testosteron düzeylerini değiştirmemektedir.Yine bu konuda yapılan başka bir çalışmada sialoadenektomiye benzer semptomlar oluşmasına karşın spermatogeneziste aşırı bir gerilemeye neden olmaktadır (4).

In vitro çalışmalar,EGF'nin Leydig hücre duvarında gerçekleştiği bilinen testosteron üretimini düzenlediğine işaret etmektedir.EGF'nin izole edilmiş Sertoli

hücrelerinden transferin salınımını stimüle ettiği aynı çalışmalarla ortaya konmuştur (1).

EGF'nin testislerin inmesi ve epididimisin gelişimi üzerinde hareket mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bu konuda üç hipotez bulunmaktadır:

1. Maternal EGF plasentayı stimüle ederek gonadotropinlerin salgılanmasında artış meydana getirerek ,fötal androjen üretiminde etkin olabilmektedir.

2. EGF hedef organlar üzerinde bu yapısının stabilizasyonunu doğrudan sağlamaktadır.

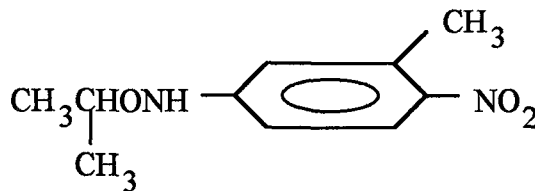
3. Maternal EGF gonadotropinlerle sinerjik olarak fötal testisler üzerinde androjen salınımını artırmaktadır (5).

Flutamid

Flutamid, diğer hormonal aktivitelerden yoksun olan nonsteroid bir antiandrojendir. Muhtemelen vücutta 2-hidroksi flutamide çevrildikten sonra etki gösterir (6).

Flutamid, androjen reseptörleri için yarıştığı bilinen bir androjen antagonistidir. Ratlarda, flutamid tedavisi mikrosomal sitokrom-450'de dikkate değer bir azalmaya neden olmuştur. Mikrosomlardaki steroid enzimlerin bazıları sitokrom-450'ye bağlı olması nedeniyle bu enzimlerin aktivitelerinde bir azalma olabileceği mümkündür (7).

Erişkin ratlarda, bu ilaç prostat ve vezika seminalis gibi hedef organlarda androjenlerin etkisinin azalmasına sebebiyet vermektedir. Testesteronun LH üzerindeki inhibitör etkisini baskılaması, LH ve testesteronun plazmadaki konsantrasyonunda artışla sonuçlanır. Günlük olarak 750 mg/kg dozunda flutamid ile tedavi edilen erkeklerde benzer etkiler gözlenmiştir. İlaç saf olduğunda plazma testesteron düzeyindeki artış bunun antiandrojenik etkilerini sınırlandırır. Flutamid, kastre edilmiş erkeklerdeki adrenal androjenlerin inhibisyonuna yol açar. Yine sürekli Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) alan erkeklerde veya LH üretiminin androjenlerin birincil kontrolünün olmadığı durumlarda en yararlı ilaçtır (7).



Flutamid' in açık formülü

Günümüzde, flutamid prostat kanserlerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Bu etkiler genellikle GnRH veya östrojenin blokajına bağlıdır. Flutamid ayrıca kadınlarda

hirsutizmin tedavisi amacıyla oral kontraseptivlerle kombine edilerek kullanılmaktadır.Flutamid, plasenta bariyerini geçtiği durumlarda cryproterone asetat'ta olduğu gibi erkek pseudohermafrodizmi meydana getirmesi beklenir.

İlaç, alınımı müteakip hızlı ve tam bir şekilde absorbe edilir.Başlıca idrar yoluyla atılırken yaklaşık %4'lük kısmı dışkı ile atılır.İlacın metaboliti de antiandrojenik etki gösterir.Flutamid ve major metabolitlerinin yarı ömrü yaklaşık olarak 5-6 saattir,plazma proteinlerine bağlanma oranı %94-96'dır(6).

Testiküler İnmenin Mekanizmaları

Hunter'in yayınına kadar,testisin skrotal kese içine inişinden sorumlu farklı mekanizmalar önerilmekteydi.İlk başta:

- 1) Testisin kordon veya kremaster kası tarafından çekildiği
- 2) Kısmen hareketsiz kordonla ilişkili olarak vücut derisinin farklı büyümesi
- 3)İntraabdominal basıncın artışına bağlı olarak,spermatik kordonun dolgunlaşması ve testisin inguinal kanala itilmesi
- 4)Epididimal gelişme ve olgunlaşmanın testiküler göçten sorumlu olduğunu anlatan fiziksel faktörler.

1-Çekme Teorisi:

Kordon, kremaster kası yada her ikisinin testisleri skrotumun içine çekmesi fikrine bağlıdır.Rodentlerde kordonu inerve eden genitofemoral sinirin kesilmesinin testiküler inmeyi önlediği ortaya kondu.Bununla birlikte farklı bir hayvan türünde sinirin kesilmesi testisin skrotuma inmesini engellemedi.Sonuçta,insan fötusunda kordon ile skrotum arasında zayıf bir bağlantı vardır ve bu da testisleri çekilmesi için yetersizdir.Bu sebeple kremaster kası tarafından testisin skrotuma çekilmesi gerçekleşmez.

2-Farklı Büyüme Teorisi:

Derinin gelişmesi fikrine bağlıdır, testis iç inguinal halkaya yakın bir bölgede bulunmaktadır.Gebeliğin son dönemlerinde vücut derisinin hızla büyümesine bağlı olarak testis,kısmen hareketsiz kordon tarafından skrotum kesesi içine çekilir.

3-Intraabdominal Basınç Teorisi:

İntraabdominal basınçtaki artış,testisin abdomenden ayrılıp inguinal kanala girmesine sebep olan primer kuvvettir.Bazı araştırmacıların sundukları teoriler ve deneysel bulgular testiküler inmeyi sağlayan kuvvetin intraabdominal basınç olduğu fikrini savunur görülmektedir.

4-Epididimal Gelişme ve Olgunlaşma Teorisi:

Testiküler inmenin epididimal teorisinin varsayım temelini oluşturan,epididimisin farklılaşması ve olgunlaşması testiküler inmeyi sağlayıp sağlamadığı araştırıldı ve bu başlangıç fikri kadar önemli olmadığı anlaşıldı.Her ne kadar anlamı açık olan testiküler inmenin mekaniksel teorisi çürütülmesi zor olsa da, adı geçen faktörler kısmen rol oynamaktadır.

Testiküler İnmenin Hormonal Değerlendirilmesi

Başlangıçta maymunlarda gonadotropinleri kullanarak prematüre testisin inmesi "Engle" tarafından dolaylı olarak açıklandı.Ondan sonra testesteronun insanlardaki testiküler inmeyi sağlamasında gonadotropinler kadar etkili olduğu açıklandı.

Bu durum,testesteron, aktivitesini azaltan 5-alfa-dihidrottestesteron,hiç değilse iki hayvan türünde testiküler inmede etkin olduğunu göstermiştir.Ayrıca 5-alfa redüktaz enziminin inhibisyonun ve androjen reseptörlerinin inhibisyonun rodentlerde testiküler inmenin gecikmesinde etkin olduğu gösterilmiştir (6).

Kriptorşidizm'in Endokrin Yönleri

Testiküler inmenin olması için gonadotropinler ve androjen gerekli ise bundan şu sonuç çıkar:Hipotalamik-pituitary-testiküler eksenindeki anomaliler kriptorşidi ile sonuçlanır.Gerçekte,farklı klinik sendromlarla kendini gösteren kriptorşidi gonadotropin yapımındaki,androjen sentezindeki androjen aktivitesindeki eksiklikler ile birlikte gözlenir.Kalman's Sendromunda hipotalamustan salgılanan GnRH 'da bir eksiklik mevcuttur ve bu durum kriptorşidizme eğilim gösteriyor olabilir. Anensephali'de yada hipofiz bezi anomalilerinde(hipoplasi yada aplasia gibi) inmemiş testis olgusu yaygındır. Androjen sentezinde yada androjen aktivitesinde düzensizlikler kriptorşidizm eğilimini artırır. Pseudovaginal perineoskrotal hypospadias'da, 5- α redüktaze enziminin yokluğunda testesteron dihidrottestesterona dönüştürülemediğinden kriptorşidizm çok sık olarak görülür.

Embriyolojik araştırmalar ve bazı deneysel verilere dayandırılmış olan bu durum, kordonun bu önemli şartlarla sıkı sıkıya bağlantılı olduğunu gösteriyor.George ve Peterson'un doğumdan sonra ratın spermatik kordonunda bir miktar dihidrottestesteron (DHT)'nun gubernekulumu bağlanabileceğini göstermiştir. Buda testiküler desensusta gubernekulumunda bir androjen hedef doku olarak davrandığını göstermektedir. Sialoadenektomiden sonra intratestikular testesteron

düzeyi iki misli fazla olmasına rağmen spermatogenezis olumsuz yönde etkilenmektedir.

37°C olan vücut içi sıcaklığın altındaki sıcaklıklarda oluşan spermatogenezis 'in regülasyonunda ısı çok önemlidir. Testiküler ısı yaklaşık 35 °C 'dir. Bu değişik mekanizmalarla kontrol edilir. Zengin bir venöz pleksus her bir testiküler arterin etrafını sarar, testiküler ısının sürdürülmesinde önemli olan bir ısı akışı sağlar. Diğer faktörler, ısı kaybını sağlayan skrotumdaki terin buharlaşması, ve spermatik kordondaki krameter kaslarının kasılması ile testislerin düşük bir ısıda kalabileceği inguinal kanallara çekilmesidir.

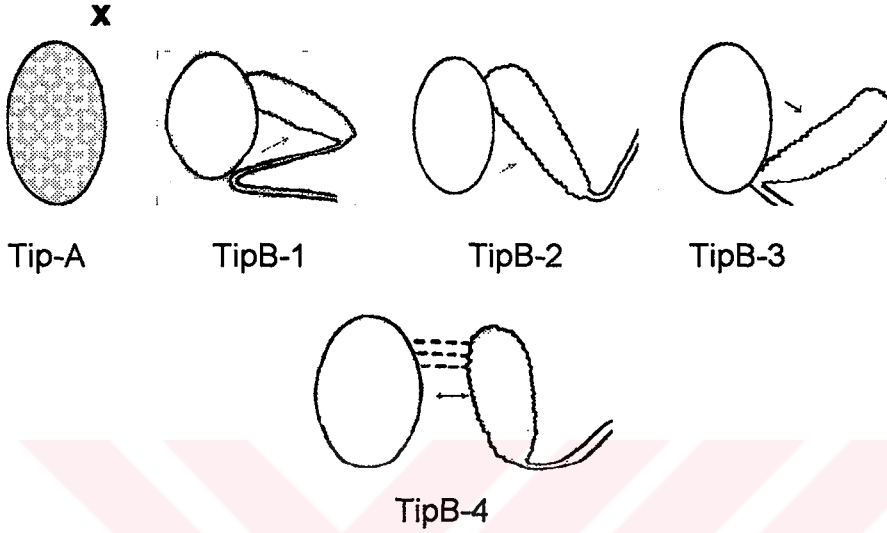
Kriptorşidik testisler, 37°C 'de kalarak spermatogenezisin gerilemesine sebep olur. Karın içi sıcaklığında kalan testislerde germ hücrelerinin yenilenmesi inhibe olur, fakat testesteron sentezi devam eder (8).

Kriptorşidizm'in Sınıflandırılması ve Testisin Lokalize Olduğu Bölgeler :

1. Abdominal yerleşen: internal inguinal kanal içerisinde.
2. Kanaliküler yerleşen: eksternal ve internal halkalar arasında yerleşen.
3. Ektopik yerleşen: normal inme, kanalından uzak, abdominal kavite ile skrotum dibi arasında.
4. Retraktil: tamamen inmemiş durumdaki testis, skrotum dibi ile kasık arasında serbestçe hareket eder (6).

Yapılan klinik gözlemler sonucu epididimis, testisten tamamen veya kısmen ayrı bulunduğu tespit edilmiştir (9).

Kriptorşitli testislerin % 50'si epididimal anomalilerle seyrederek. Epididimal anomalilere aynı zamanda flutamide ile oluşturulan kriptorşidli hayvan modellerinde aynı orana rastlanılmıştır (10,11,12,13).



Şekil-1:Kriptorşidi ile birlikte seyreden epididimal anomalilerin sınıflandırılması (Heath'e göre).

Tip A : Epididimis ve kanalının hiç gelişmemesi

TipB-1 : Gövdenin bağlanmasında kayıpla birlikte kaput ve kauda epididimisin normal bağlanması

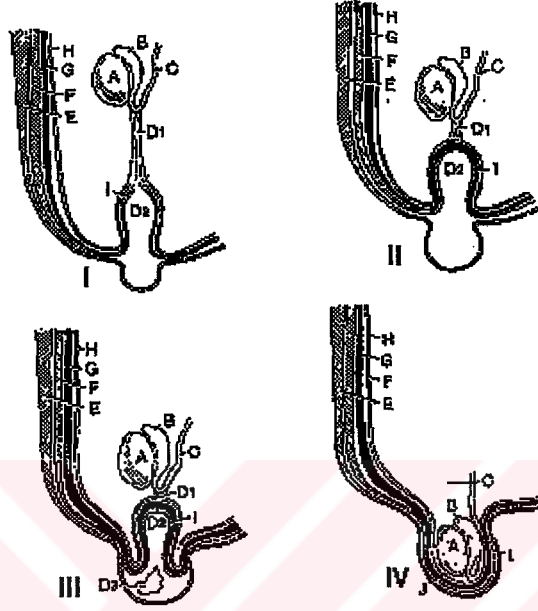
TipB-2 : Kaput epididimisin normal bağlanması ile birlikte testisten uzaklaşan kanalın görünümü

TipB-3 : Kauda epididimisin normal pozisyonu ile birlikte kaput epididimisin testisten bağımsız yerleşimi

TipB-4 : Testis ve epididimis arasında tam ayrılma

Ratlarda Testis'in Skrotal Keseye Normal İnişi :

Sprague-Dawley cinsi ratlarda testislerin skrotal keseye inişi doğumdan sonra 21-22. günlerde gerçekleşir. Bu durumla ilgili gelişim Şekil-2 'de verilmiştir.



Şekil-2 : Prenatal ve postnatal gelişim sürecinde gubernekulumdaki değişiklikler (Dauglas' a göre).

I-Gebeliğin 16.gününde , II- Gebeliğin 20.gününde, III-Gebeliğin 21.gününde
IV- Doğumdan sonra 22.günde gubernakulumun gelişimi.

- A:Testis, B:Epididimis, C: Vasa defferens, D: Total gubernakulum
D1: Gubernakulum kordonu D2: Gubernakulumun geniş kısmı
D3: Gubernakulum mezenşimi boşluğu, E: M. obliquus externus
F: M.obliquus internus, G: M.transversus, H: Periton, I: M.kremaster
J: Prosessus vaginalis

MATERYAL VE METOD

Araştırmamızda kullandığımız laboratuvar hayvanlarını, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi (**DÜSAM**)' nden temin ettik. Deney hayvanı olarak erişkin dişi Spraque-Dawley ratlar kullanıldı. Bu hayvanlar optimal ısı olan 23° C 'de, 14 saat ışık, 10 saat karanlıkta ve nispi nem oranı %45' lik bir laboratuvar ortamında barındırıldılar. Deney gruplarından biri kontrol olmak üzere dört gruptan oluşturuldu.

Grup-1 (Kontrol) : Kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu gruptaki erişkin dişi ratlar çiftleştirildi (n:10). Doğumdan sonra 22.günde erkek ratların testis ve epididimisleri makroskopik değerlendirilmesi yapıldı.

Grup-2(Sialoadenektomi:Sx) : Dişi Spraque-Dawley ratların (n:10), Ketalar(Ketamin HCl 50 mg/ml) 10 mg/100 g vücut ağırlığı + 0,8 mg/100 g vücut ağırlığı Rompun (Xylazine %2'lik solusyonu)'nun İntraperitoneal uygulaması ile genel anestezileri yapıldı. Boynun transversal ensizyonu yapılarak, glandula submandibularisleri total olarak ekstirpe edildi (14).

Operasyondan dört hafta sonra dişi ratlar çiftleştirildiler. Çiftleştirilen dişilerin vaginal smerlerine bakılarak gebeliğin başlangıcı tespit edildi .

Doğumdan soraki 22.günde erkek ratlar kriptosidi ve epididimal anomalileri yönünden Heath'in klasifikasyonu esas alınarak yapıldı (13).

Grup-3 (Flutamid:F) : Dişi Spraque-Dawley ratlar (n:10), çiftleştirmeye alınarak gebeliğin 1.günü vaginal smerin mikroskopik muayenesiyle tespit edildi. Gebe ratlara gebeliğin 11-21. günleri arasında bir antiandrojen olan Eulexin (Flutamide 250 mg tablet) 10mg/100 g vücut ağırlığı dozunda günlük uygulaması yapıldı. Doğumdan sonra 22.günde erkek ratların testisleri kriptosidi ve epididimislerdeki anomaliler tespit edildi.

Grup-4 (Sialoadenektomi+Flutamid:Sx+F) :Grup-2'de olduğu gibi dişi ratlar (n:10), sialoadenektomi (Sx) operasyonu yapılarak glandula submandibularisleri alındı. Bu gruptaki sıçanlar sialoadenektomi operasyonunu müteakip dördüncü haftada çiftleştirilerek, vaginal smerin mikroskopik muayenesiyle gebeliğin 1. günü tespit edildi. Gebe ratlara gebeliğin 11-21. günleri arasında orogastrik sonda ile bir antiandrojen olan Eulexin 10mg /100 g vücut ağırlığı dozunda günlük uygulaması yapıldı.

Doğumdan sonra 22.günde erkek yavrular kriptosidi ve epididimal anomaliler yönünden değerlendirildi.

Doğumdan sonra 60.günde kontrol ve deney gruplarına ait bütün ratlar ketalar ile genel anestezi altında hormonal değerlendirme (LH, FSH, Testesteron) amacıyla intrakardiyak yolla kanları alındı. Serum hormon değerlendirilmesi RIA metoduyla yapılarak, istatistiksel olarak Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi.

Daha sonra bütün ratların vücut ağırlıkları, erkek genital organ ağırlıkları (testis, epididimis, prostat,glandula vezikuloza, glandula bulbouretralis) ve böbrek ağırlıkları 10^{-4} hassasiyetindeki terazi ile ölçümü yapıldı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak varyans analizi ile değerlendirildi.Ayrıca oküler mikrometre yardımıyla her preparattan 50 şer adet olmak üzere yuvarlak enine kesilmiş seminifer tubul ve epididimal kanal kesitleri ölçüldü ve Student's-t testiyle istatistiksel değerlendirilmeleri yapıldı.

Histolojik inceleme amacıyla testis ve epididimis dokuları %10'luk nötral formalinde fikse edildi.Bilinen histolojik yöntemlerle elde edilen 4-5 μ m kalınlığındaki parafin kesitleri Hematoksilen Eozin (H-E), Hematoksilen-Van Gieson,Masson tripple ve Periodic acide shiff (PAS) ile boyanarak ışık mikroskobu altında değerlendirildi ve mikrofotoğrafları alındı (15).

BULGULAR

Aşağıda belirtilen parametrelerden yararlanıldı;

A-Vücut ve üreme organ ağırlıklarının istatistiksel değerlendirilmesi.

B-Testis ve epididimis'in makroskopik görünüşleri.

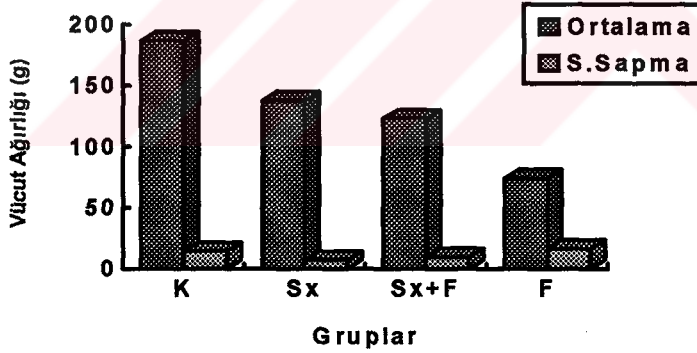
C-Serum hormon değerleri.

D-Seminifer tubul ve epididimal kanal çaplarının morfometrik ölçümleri.

E-Histopatolojik bulgular.

A-)Vücut ve Üreme Organ Ağırlıklarının İstatistiksel Değerlendirilmesi:

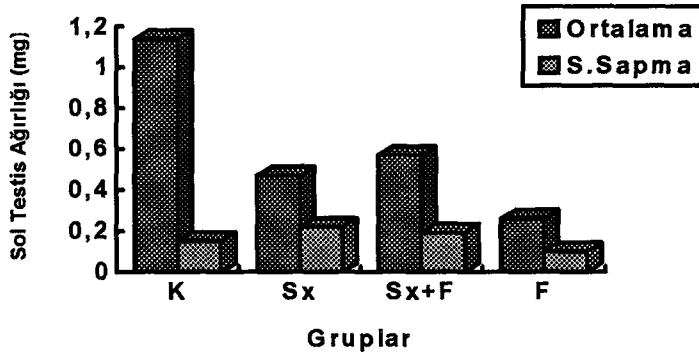
Deney sonunda vücut ağırlıkları ve erkek üreme organlarından testis, epididimis, erkek eklenti bezlerinden prostat, vezikula seminalis, glandula bulbouretralis ve böbrekler alınarak 10^{-4} hassasiyetteki "Mettler AJ 150" marka dijital terazi ile ölçülerek, veriler istatistiksel olarak varyans analizi ile değerlendirilerek aşağıdaki grafikler elde edildi.



Grafik-1 : Vücut ağırlığındaki değişim

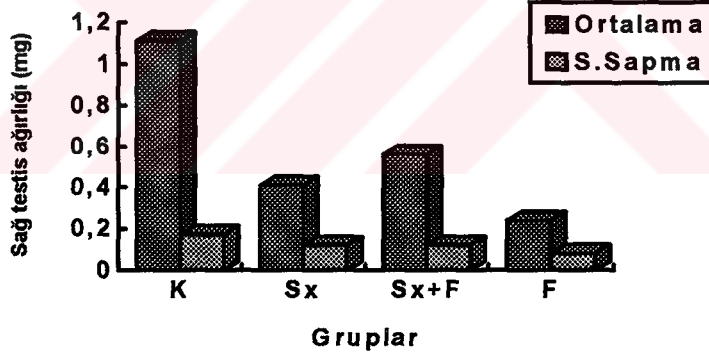
K:Kontrol, **Sx:** Sialoadenektomi, **F:** Flutamide

Kontrol grubuna oranla Sx, Sx+F, F gruplarına ait denek hayvanlarının vücut ağırlıklarında azalma gözlemlendi. Ancak vücut ağırlıklarında en fazla düşüşün olduğu grup Flutamide (F) grubudur. İstatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur ($P < 0.001$).



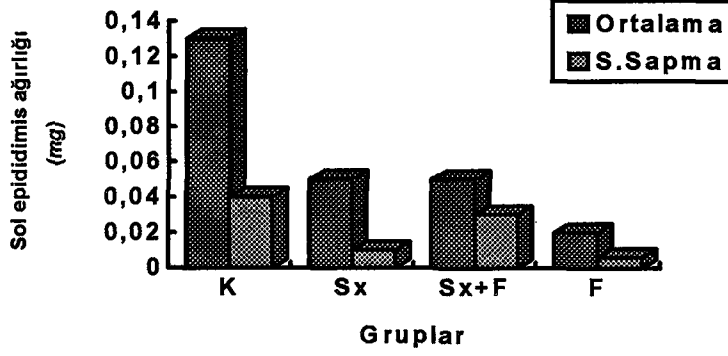
Grafik-2: Sol testis ağırlıklarındaki değişiklik

Kontrol grupuna oranla Sx,Sx+F, F gruplarının sol testis ağırlıkları arasında önemli miktarda düşüş gözlemlendi.Sol testis ağırlıklarında en fazla düşüşün olduğu grup Flutamide grubudur.Sol testis ağırlıklarındaki düşüşte istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ($P<0.001$).



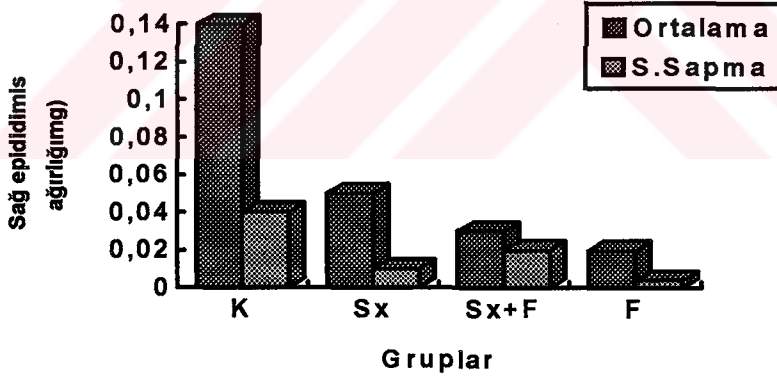
Grafik-3: Sağ testis ağırlıklarındaki değişiklik

Kontrol grupuna oranla Sx,Sx+F, F gruplarının sağ testis ağırlıkları arasında önemli miktarda düşüş gözlemlendi.Sağ testis ağırlıklarında en fazla düşüşün olduğu grup Flutamide grubudur.Sağ testis ağırlıklarındaki düşüşte istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ($P<0.001$).



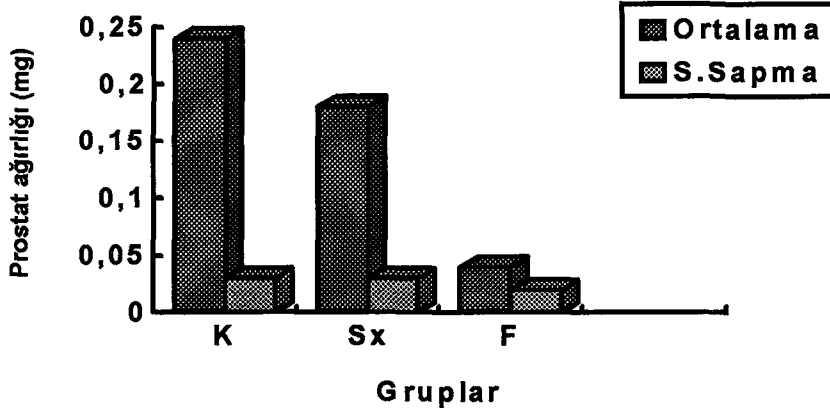
Grafik-4: Sol epididimis ağırlıklarının değişimi

Kontrol grubuna oranla Sx,Sx+F, F gruplarına ait sol epididimislerin ağırlıklarında önemli düşüş tesbit edilmiştir. Ancak bu düşüş Flutamide grubunda en belirgindi.Sol epididimis ağırlıklarının düşüşünde istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ($P<0.001$).



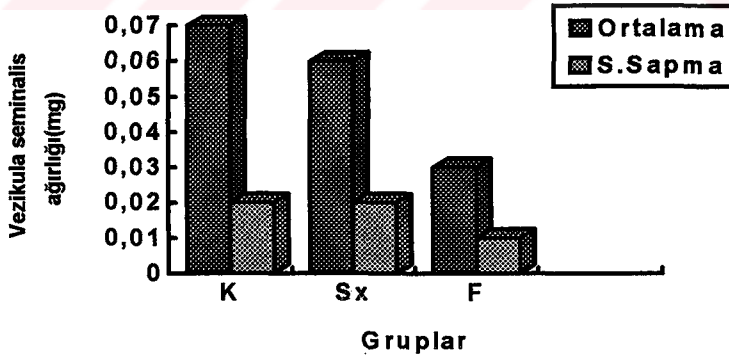
Grafik-5: Sağ epididimis ağırlıklarının değişimi

Kontrol grubuna oranla Sx,Sx+F, F gruplarına ait sağ epididimislerin ağırlıklarında önemli düşüş tesbit edilmiştir. Ancak bu düşüş Flutamide grubunda en belirgindi.Sağ epididimis ağırlıklarının düşüşünde istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ($P<0.001$).



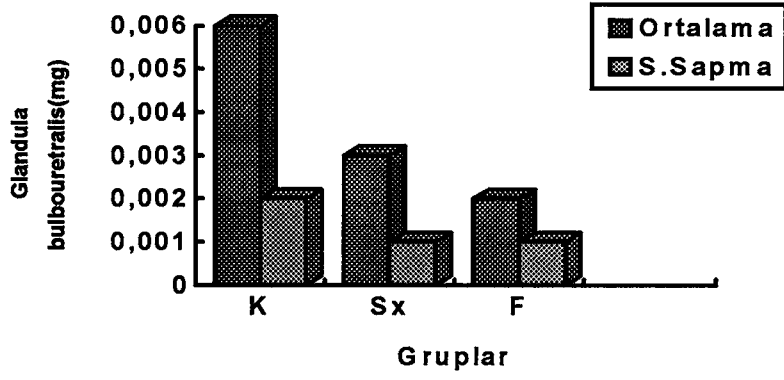
Grafik-6 : Prostat bezinin ağırlığındaki değişim

Sx+F grubunda prostat bezleri atrofik olduğundan istatistiksel değerlendirmeye alınmadı. Kontrol grubuna oranla Sx , F grubuna ait prostat ağırlıklarında önemli bir düşme vardı. İstatistiksel olarak en bariz prostat ağırlığındaki azalma flutamide grubunda tesbit edilmiştir ($P<0.001$).



Grafik-7 : Vezikula seminalis'in ağırlığındaki değişiklikler

Sx+F grubunda vezikula seminalis bezleri atrofik olduğundan istatistiksel değerlendirmeye alınmadı. Kontrol grubuna oranla Sx , F grubuna ait vezikula seminalis ağırlıklarında önemli bir düşme vardı. İstatistiksel olarak en bariz vezikula seminalis ağırlığındaki azalma flutamide grubunda tesbit edilmiştir ($P<0.001$).



Grafik-8: Glandula bulbouretralis ağırlığındaki değişim

Sx+F grubunda glandula bulbouretralis bezleri atrofik olduğundan istatistiksel değerlendirmeye alınmadı. Kontrol grubuna oranla Sx , F grubuna ait glandula bulbouretralis ağırlıklarında önemli bir düşme vardı. İstatistiksel olarak en bariz glandula bulbouretralis ağırlığındaki azalma flutamide grubunda tesbit edilmiştir ($P < 0.001$).

Böbrek Ağırlıklarındaki Değişim:

Kontrol grubuna oranla Sx, Sx+F, F grupları arasında sağ ve sol böbrek ağırlıklarında herhangi bir değişiklik meydana gelmemiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı ($P > 0.05$).

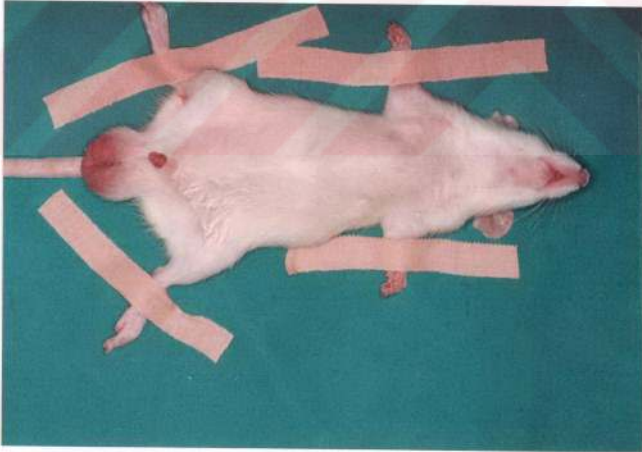
B-) Testis ve Epididimis'in Makroskopik Görünümlerinin Değerlendirilmesi :

Kontrol ve uygulama yapılan annelerden doğan yavrular doğumdan sonra 22.günde testis dokuları kriptosidi yönünden, epididimis dokularıda epididimal anomaliler yönünden değerlendirildi.Epididimal anomalilerin değerlendirilmesi Heath'in klasifikasyonuna göre yapıldı ve sonuçlar Tablo-I 'de gösterilmiştir.

Tablo-I : Sialoadenektomi ve flutamid uygulamasıyla inmemiş testis ve epididimal anomalilerin % dağılımı :

Uygulama	Inmemiş testis % oranı	Epididymal anomali % oranı
Kontrol grubu (K)	%0	%0
Sialoadenektomi (Sx)	%26	%39*
Flutamide (F)	%38	%48*
Sialoadenektomi+Flutamid (Sx+F)	%36	%42*

* Epididimal anomaliler **TıpB-1** ve **TıpB-2** olarak ağırlıklıydı. (Epididimal anomalilerin sınıflandırılması Şekil-1'de verilmiştir.)



Resim-1:(Kontrol grubu) Sırt üstü yatırılmış bir rat'ın görünümü.
22.günde skrotal keseye inmesini tamamlamış testislerin durumu.



Resim-2:(Kontrol grubu) Testis ve epididimis organlarının normal pozisyonu.



Resim-3: (Flutamide grubu) Sırt üstü yatırılmış rat'ın görünümü. 22.günde tek taraflı kriptorşidi olgusu.



Resim-4: (Flutamide grubu) Sırt üstü yatırılmış rat'ın görünümü. 22.günde tek taraflı kriptorşidi olgusu ve inmemiş testisin karın boşluğundaki yerleşimi.



Resim-5:(Flutamide grubu) TipB-4 epididimal anomalisinin görünümü.

C-Serum Hormon Değerleri:

Deney sonunda, kontrol ve deney grubuna ait ratlardan intrakardiyak yolla kanları alınarak, santrifüje edildi. Bu serumlarda RIA (Raddioimmunoasay) metoduyla testesteron ve Luteinizan hormon (LH) ile Follikül Stimulan Hormon (FSH) düzeyleri ölçüldü.Elde edilen veriler istatistiksel olarak Mann -Whitney U testi ile değerlendirildi. Bu bulgular Tablo-II 'de gösterilmiştir.

Tablo-II :Serum hormon değerleri

Gruplar	LH (ng/ml)	FSH (ng/ml)	Testesteron (ng/ml)
K	1.18 ± 0.26	1.04 ± 0.15	5.06 ± 1.93
Sx	1.12 ± 0.24	0.86 ± 0.44	7.48 ± 3.76
F	1.4 ± 0.26	1.16 ± 0.8	9.64 ± 1.63
Sx + F	1.34 ± 0.24	1.08 ± 0.31	9.4 ± 1.14

LH düzeyleri:

Kontrol ile Flutamide grubu arasında istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Kontrol medyan =1.1, Flutamide medyan = 1.4 (P>0.05).

Kontrol ile Sx grubu arasında istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Kontrol medyan =1.1, Sx medyan = 1.1 (P>0.05).

Kontrol ile Sx+ F grubu arasında istatistiksel olarak önemli fark yoktur. Kontrol medyan =1.1, Sx + F medyan = 1.4 (P>0.05).

FSH düzeyleri:

Kontrol ile Flutamide grubu arasında istatistiksel olarak önemli fark yoktur. Kontrol medyan =1.1, Flutamide medyan = 1.2 (P>0.05).

Kontrol ile Sx grubu arasında istatistiksel olarak önemli fark yoktur. Kontrol medyan =1.1, Sx medyan = 1.0 (P>0.05).

Kontrol ile Sx+F grubu arasında istatistiksel olarak önemli fark yoktur. Kontrol medyan =1.1, Sx+F medyan = 1.0 (P>0.05).

Testesteron düzeyleri

Kontrol grubu ile Flutamide grubu arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur.Kontrol medyan =5.9, Flutamide medyan = 9.6 (P<0.05).

Kontrol ile Sx grubu arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur.Kontrol medyan = 5.9, Sx medyan = 6.7(P<0.05).

Kontrol grubu ile Sx+F grubu arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur. Kontrol medyan =5.9 , Sx+F medyan = 9.0 ($P<0.05$).

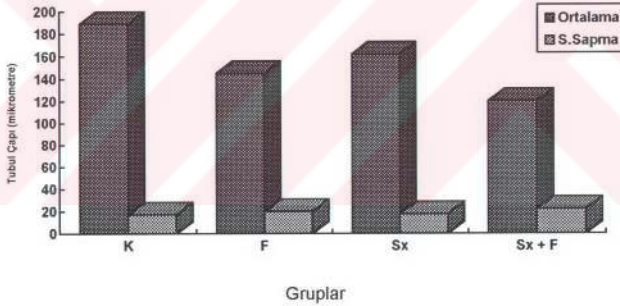
D-) Seminifer Tubul ve Epididimal Kanal Çaplarının Morfometrik Ölçümleri:

Seminifer tubul çaplarındaki değişiklikler:

Testis dokusuna ait seminifer tubullerin transversal kesitleri oküler mikrometre ile ölçümü yapıldı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak Student's-t testi ile değerlendirilmesi yapıldı.

Buna göre;

Kontrol seminifer tubul çapları ile Flutamide grubuna ait tubul çapı ortalamaları arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur ($t= 20.32$; $P<0.001$). Bu verilere göre Flutamide grubuna ait ortalama seminifer tubul çaplarında kontrol grubuna oranla düşük olduğu gözlenmiştir.



Grafik-9 : Seminifer tubul çaplarındaki değişiklikler

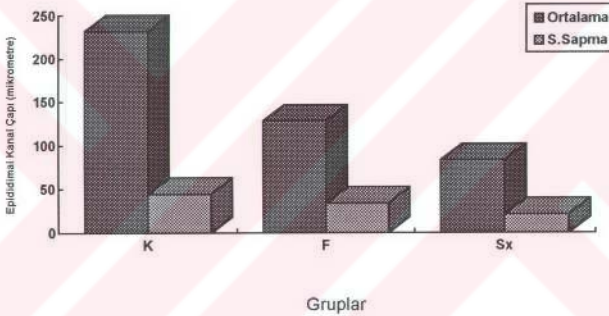
Kontrol grubu ile Sx grubu arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur ($t= 13.5$; $P<0.001$). Kontrol grubuna oranla Sx grubunun testis seminifer tubul çaplarında bir düşme gözlenmiştir. Fakat bu düşüş Flutamide grubuna nazaran artış olduğunu göstermiştir.

Kontrol grubu ile Sx+F grubunun ortalama seminifer tubul çapları arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur ($t= 29.8$; $P<0.001$). Kontrol grubuna

nazaran Sx+F grubunda belirgin bir düşüş tesbit edilmiştir. Diğer gruplar arasında Sx+F grubunun tubul çapının en fazla düşüş gösterdiği tesbit edilmiştir.

Epididimal kanal çaplarındaki değişiklikler :

Epididimis dokusuna ait kanalların transversal kesitleri oküler mikrometre ile ölçümü yapıldı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak Student's-t testi ile değerlendirilmesi yapıldı. Sx+F grubuna ait epididimis kanallarında atrofi ve sayısal azalma dikkati çekecek düzeydeydi. Bu nedenle bu gruba ait kanal kesitleri istatistiksel değerlendirmeye alınmadı.



Grafik-10: Epididimal kanal çaplarındaki değişiklikler

Kontrol epididimis kanal çapları ile Flutamide grubuna ait kanal çapı ortalamaları arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur ($t= 14.42$; $P<0.001$). Bu verilere göre Flutamide grubuna ait ortalama kanal çaplarında kontrol grubuna oranla düşük olduğu gözlenmiştir.

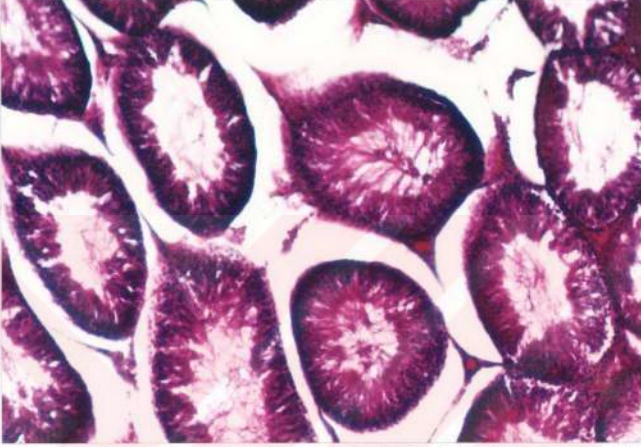
Kontrol grubu ile Sx grubu arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur ($t= 23.47$; $P<0.001$).

Kontrol ve Flutamide gruplarına oranla Sx grubunun epididimal kanal çaplarında belirgin bir düşme gözlenmiştir.

E) Histopatolojik Bulgular :

Testis dokusuna ait histopatolojik bulgular :

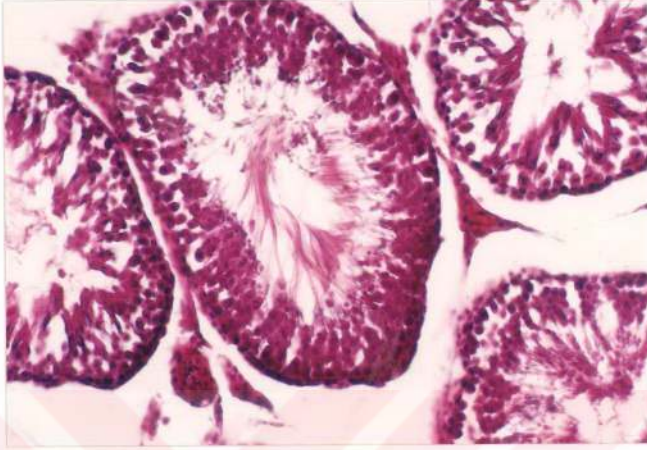
Grup-1 (Kontrol): Kontrol grubuna ait testis kesitlerinde, seminifer tubuller, interstiteel dokuda Leydig hücreleri ve spermatogenetik seri hücreleri izlendi, herhangi bir patolojiye rastlanmadı (Resim-6a,b,c).



Resim-6a : Kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tubullerin enine kesitleri ve interstiteel dokuda yer alan Leydig hücreleri izlenmektedir (H-E, Orijinal büyütme X41).



Resim-6b : Kontrol grubuna ait testis kesiti. Tabii görünümde testisin parankimal dokusu (Hematoksilen -Van Gieson, Orijinal büyütme X41).

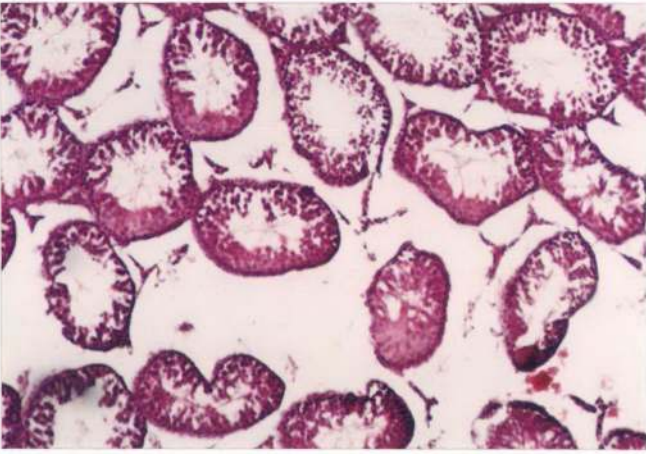


Resim-6 c : Kontrol grubuna ait testis kesiti.Seminifer tubullerin bazal laminası üzerine yerleşik spermatogenetik seri hücrelerinin tüm kademeleri izlenmektedir (H-E, Orijinal büyüme X82).

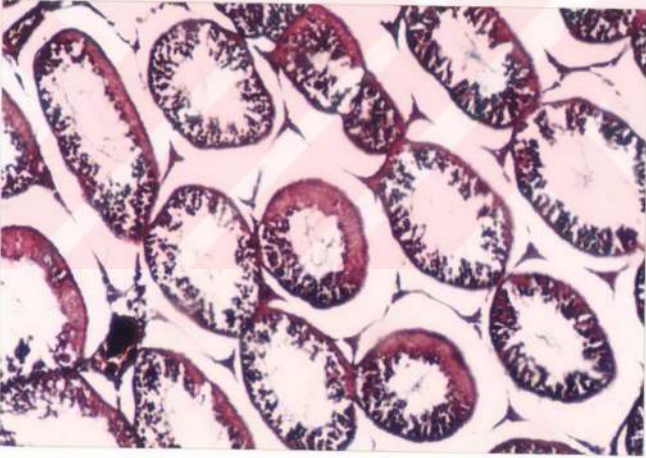
Grup-2 (Sialoadenektomi grubu) :

Bu gruba ait testis kesitlerinde, testis dokusunun sentral kısmında belirgin ödem, tubullerde atrofi ve Leydig hücrelerinde azalma, bazı tubullerde spermatogenetik hücrelerde azalma, Sertoli hücrelerinde artış, spermatosit-II ihtiva edecek şekilde arrest durum, tunika albuginea'da vaskülerlarizasyonda artış ve konjesyon izlendi (Resim- 7 a,d). Bu gruba ait bazı deneklerin testis kesitlerinde, Leydig hücrelerinde belirgin bir proliferasyon gözlemlendi (Resim-7 b,d).

Testise ait perifer tubullerde interstitiel ödem ve atrofi bulunmazken, hiposelülerite, germinal hücrelerde dizilim bozukluğu izlenirken, spermatosit-II seviyesinde arrest tespit edildi. Bu gruba ait testis kesitlerinin hiçbirinde spermatozoa'ya rastlanmadı.Seminifer tubullerin bazal laminalarında herhangi bir kalınlaşma gözlenmedi (Resim-7c).



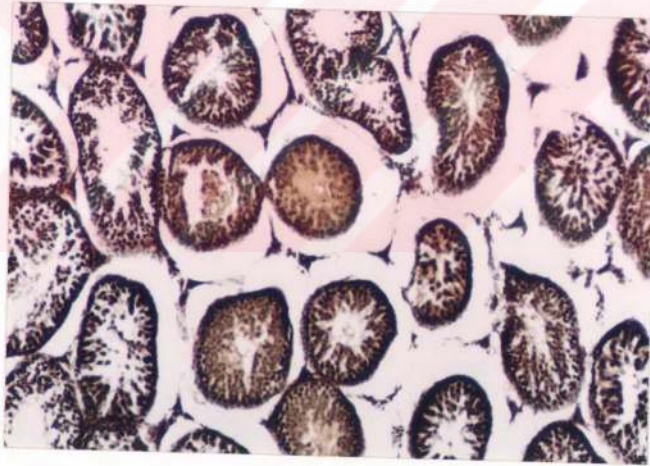
Resim-7a : Sialoadenektomi grubuna ait testis kesiti. Tubullerde atrofi ve dejenaratif değişikliklerin yanında interstiel ödem (H-E, Orijinal büyütme X41).



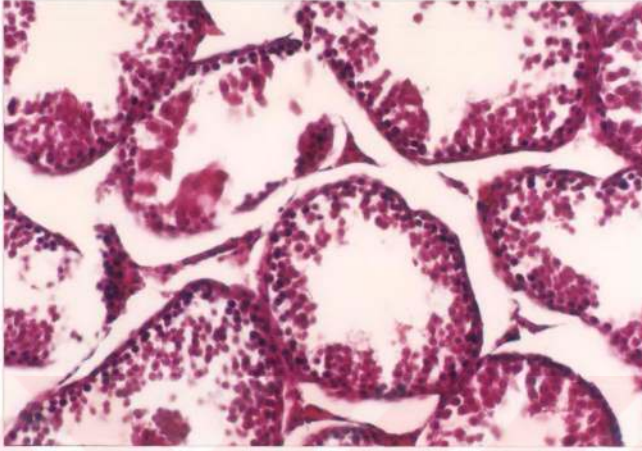
Resim-7b : Sialoadenektomi grubuna ait testis kesiti. Bazı tubullerde dejenaratif değişiklikle yanında, Sertoli hücreleri görölmektedir (Masson triple, Orijinal büyütme X41).



Resim-7c:Sialoadenektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tubullerin bazal laminası tabii görünümde iken, germinal epitel diziliminde düzensizlik hali (PAS , Orijinal büyütme X41).



Resim-7d:Sialoadenektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tubullerde atrofi, dejeneratif değışikler ve interstitiel ödem (Hematoksilen-Van Gieson, Orijinal büyütme X41).



Resim-7e : Sialoadenektomi grubuna ait testis kesiti. Spermiumlardan yoksun ve hücrelerarası bağlantıları çözülmüş germinal epitel (H-E, Orijinal büyütme X 82).

Grup-3 (Flutamide grubu) :

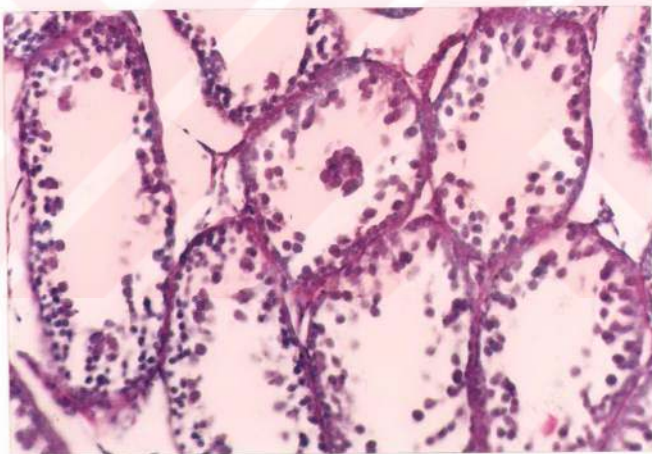
Bu gruba ait testis kesitlerinde, testisin sentral bölgesinde interstitiel ödem, seminifer tubullerde atrofi, germinal hücrelerde deskuamasyon sonucu tubul lümenlerinde hücre grupları görüldü (Resim-8c).

Spermatogenetik hücrelerde hiposelülerite, Sertoli hücrelerinde artış ve Spermatozoid seviyesinde arrest izlendi. Seminifer tubullerin bazal laminalarında kalınlaşmaya rastlanmadı (Resim-8b,d).

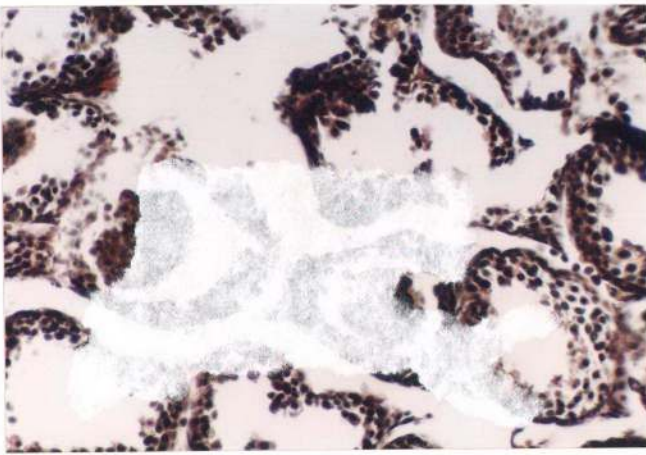
Bu gruba ait başka testis kesitlerinde, tunika albuginea altına yerleşik tubullerde hiposelülerite ve damarlarda konjesyone durum izlendi (Resim-8a).



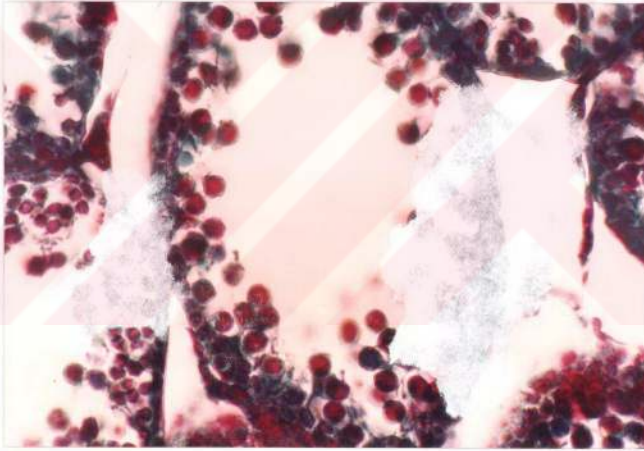
Resim-8 a : Flutamide grubuna ait testis kesiti. Tubuler dejenerasyon, damarlarda konjesyone durum ve interstitiel ödem (PAS, Orijinal büyütme X41).



Resim-8 b : Flutamide grubuna ait testis kesiti. Germinal epitelde dejenerasyon ve tubul lumenlerinde deskuamasyon izlenmektedir (PAS , Orijinal büyütme X41).



Resim-8 c : Flutamide grubuna ait testis kesiti. Bazı seminifer tubullerde perforasyon, tubul lumenlerinde deskuame olmuş epitel hücreleri (Hematoksilen-Van Gieson, Orijinal büyütme X82).

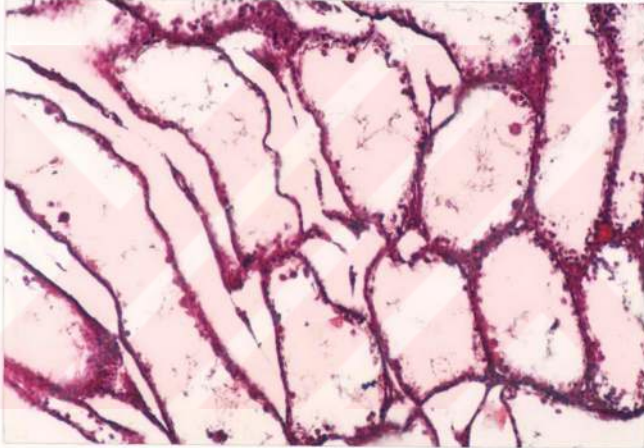


Resim-8 d: Flutamide grubuna ait testis kesiti. Seminifer tubulde yalnız spermatogonia ve primer spermatositler izlenmektedir (Masson tripple, Orijinal büyütme X41).

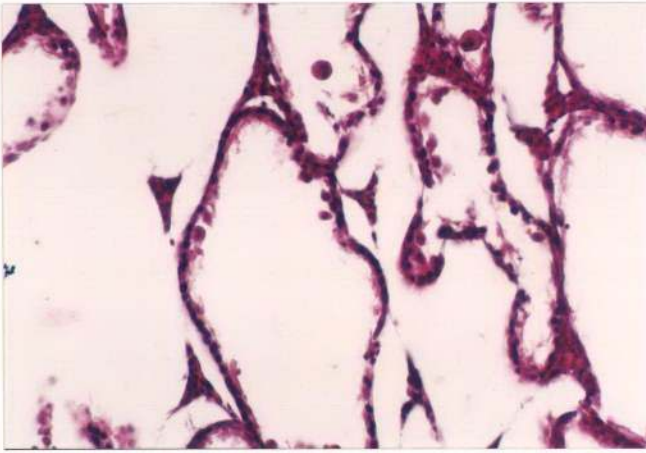
Grup-4 (Sialoadenektomi + Flutamide grubu) :

Bu gruba ait testis kesitlerinde, ileri derecede interstitiel ödem, tubuluslarda şekil bozukluğu ve atrofi, tubullerin ekseriyası germinal epitel ve Sertoli hücrelerinden yoksun olması dikkati çekiciydi. Leydig hücre proliferasyonu ile seminifer tubul bazal laminalarında kalınlaşma gözlenirken bazı tubularda sadece spermatogonialara rastlandı (Resim-9a,b).

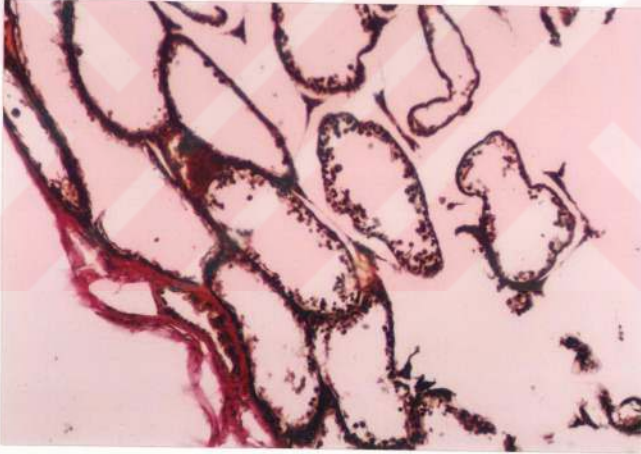
Bu gruba ait başka testis kesitlerinde, hem periferde hemde sentral bölgede tubuller atrofi ve damarlarda konjesyone durum barizdi (Resim-9c,d).



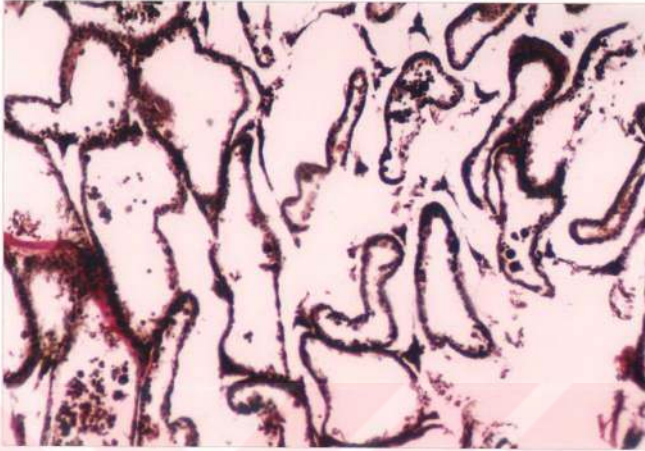
Resim-9 a : Sialoadenektomi +flutamide grubuna ait testis kesiti.Tipik testiküler atrofi tablosu izlenmektedir (H-E, Orijinal büyütme X41).



Resim-9 b : Sialoadenektomi +flutamide grubuna ait testis kesiti. Sadece spermatogonia içeren seminifer tubullerin yanında, Leydig hücre proliferasyonu (H-E, Orijinal büyütme X41).



Resim-9 c : Sialoadenektomi +flutamide grubuna ait testis kesiti. Germinal epitelden tamamen yoksun ileri derecede atrofiye uğramış tubuller yanında interstitiel ödem (Hematoksilen-Van Gieson, Orijinal büyütme X41).

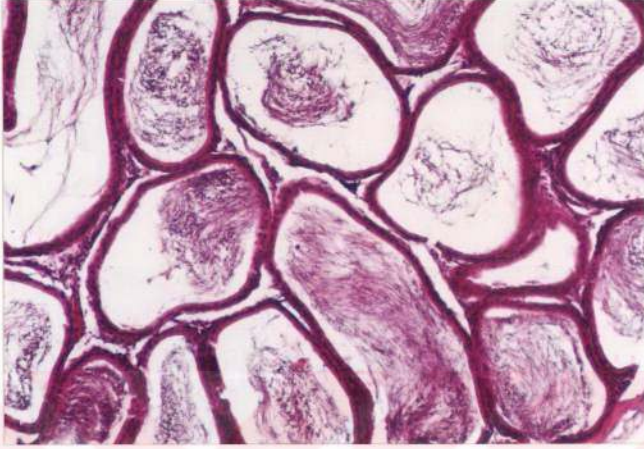


Resim-9 d : Sialoadenektomi + flutamide grubuna ait testis kesiti. Tubullerde ileri derecede atrofi ve interstitiel ödem (Hematoksilen-Van Gieson, Orijinal büyütme X41).

Epididimis dokusuna ait histopatolojik bulgular :

Grup-1 (Kontrol grubu) :

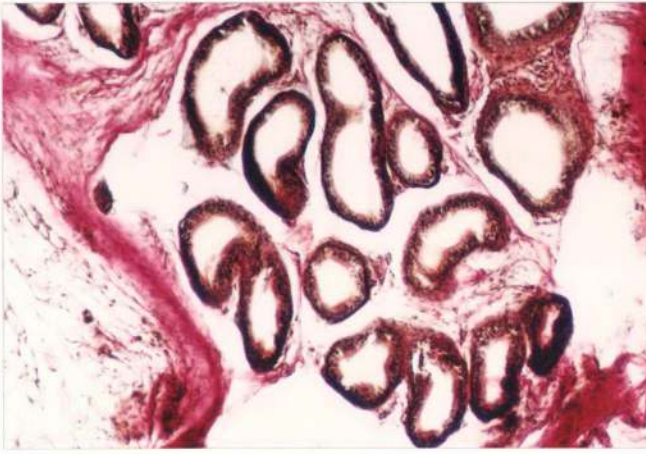
Bu gruba ait rat epididimis kesitlerinde herhangi bir patolojiye rastlanmadı. Lumenleri spermiumla dolu, düzenli epididimal kanal kesitleri izlendi (Resim-10).



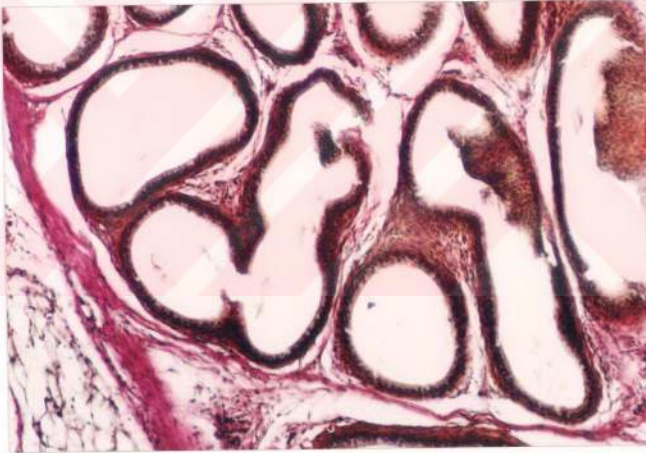
Resim-10 : Kontrol grubuna ait epididimis kesiti.Epididimal kanalların enine kesitleri ve lumenlerinde akümüle olmuş spermiumlar izlenmektedir (H-E, Orijinal büyütme X41).

Grup-2 (Sialoadenektomi grubu) :

Epididimis kesitlerinde, epididimal kanallarda atrofi, interstitiel ödem ve bağ dokusunda artışla birlikte mukoza epitelinde pseudostratifikasyon durumu gözlemlendi. Spermiumdan tamamen yoksun epididim kanallarının bir kısmında papillamsı yapılar izlendi (Resim-11a,b).



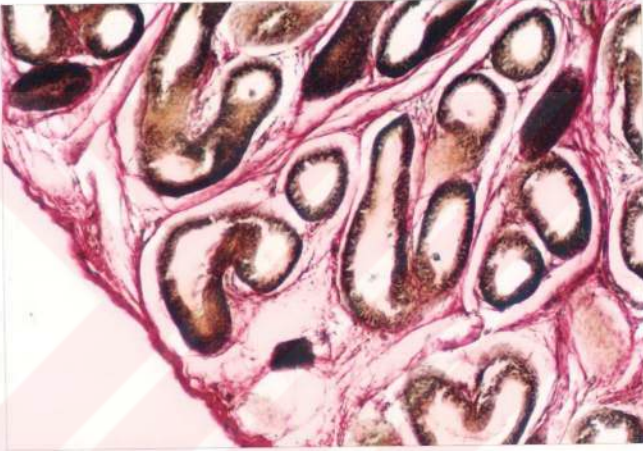
Resim-11a : Sialoadenektomi grubuna ait epididimis kesiti. Epididimal kanalda atrofi, interstiyel bağ doku artışı ve ödem (Hematoksilen-Van Gieson, Orijinal büyütme X41).



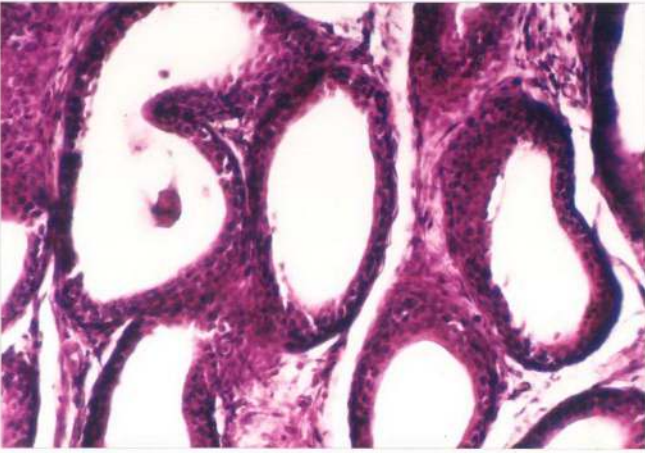
Resim-11 b : Sialoadenektomi grubuna ait epididimis kesiti. Epididimal kanalda papillamsı yapılar, mukoza epitelinde metaplazi ve interstiyel fibrozis(Hematoksilen-Van Gieson, Orijinal büyütme X82).

Grup-3 (Flutamide grubu) :

Spermiumlardan yoksun epididimal kanallarda atrofi ve interstital fibrozis gözlendi (Resim-12 a). Bu gruba ait diğer bir ratın epididymis kesitinde lumene doğru uzanan papillamsı yapılar ve mukoza epitelinde metaplazi çok dikkati çekiciydi (Resim-12 b).



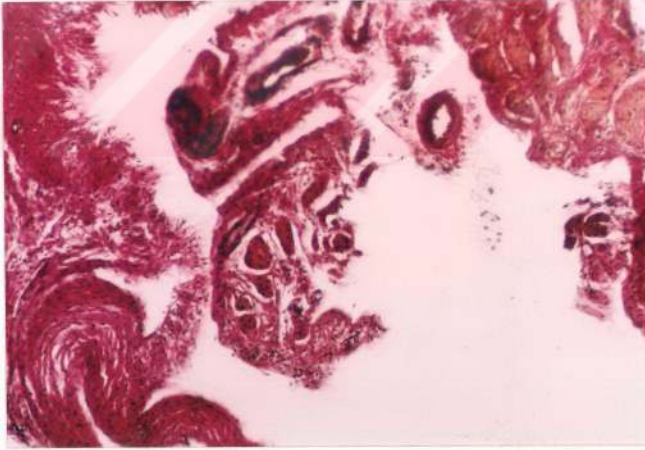
Resim-12 a : Flutamide grubuna ait epididimis kesiti.Epididimal kanallarda ileri derecede atrofi ve interstital fibrozis tablosu (Hematoksilen-Van Gieson , Orijinal büyütme X41).



Resim-12 b : Flutamide grubuna ait epididimis kesiti. Epididimal kanalda papillamsı yapılar ve mukoza epitelinde metaplazi (H-E, Orijinal büyütme X82).

Grup-4 (Sialoadenektomi+ Flutamide grubu) :

Epididimisin parankimal yapısı silüetler halinde izlenirken interstitiel fibrosis çok belirgindi (Resim-13).



Resim-13 : Sialoadenektomi + flutamide grubuna ait epididimis kesiti. Interstitiel fibrosis ve silüetleri seçilen epididimal kanal kesitleri (Hematoxilen-Van Gieson, Orijinal büyütme X41).

TARTIŞMA

Testis içinde EGF konsantrasyonunun düzenlenmesi, değişik faktörlerin etkisi altında gerçekleşir. Sx'li farelerde serum FSH ve testesteron normal düzeyde olmasına rağmen,EGF'nin düşük düzeyde bulunması sonucu spermatogenezis olumsuz yönde etkilenmektedir.EGF'nin dışarıdan verilmesi neticesinde spermatogenezisin düzeldiğine dair çalışmalar mevcuttur (2).

Vücut ve erkek genital organ ağırlıklarında düşüş, antiandrojen (Flutamide) ve EGF'ye bağlı olarak gerçekleştiği, fakat böbrek ağırlıklarında istatistiksel olarak belirgin bir düşüş meydana gelmediği daha önce yapılan araştırmalarda kaydedilmiştir (1).

Araştırmamızda, deney sonunda vucüt ve erkek genital organ ağırlıkları (testis,epididimis, prostat,glandula bulbouretralis,glandula veziküloza) ve böbrekler hassas terazi ile ölçülerek, veriler istatistiksel olarak varians analizi ile değerlendirildi.Bu veriler Grafik 1-8 'da verilmiştir.Daha önce yapılan çalışmalarda olduğu gibi, bizim araştırmamızda da vucüt ve üreme organ ağırlıklarında kontrol grubuna oranla Flutamide, Sx, Sx+F gruplarında bariz bir düşüş gözlenirken böbrek ağırlıklarında düşüş gözlenmedi.Bu durum daha önce yapılan araştırmalarla paralellik göstermektedir.

Maternal EGF gebelik ve laktasyon döneminde artmaktadır (2).Gebeliğin 11.gününde farelerde EGF düzeyi en üst düzeye varır buda fetal gonadin androjen sekresyonu yaptığı döneme denk düşer.Yapılan çalışmalarda plasentanin EGF reseptörleri yönünden çok zengin olduğu ve EGF reseptörlerinin invitro sitümilasyonu plasental gonadotropinlerin salınımını artırdığı göstermiştir (16,17,18,19,20).Yükselen maternal EGF'ye 'ye bağımlı olarak yükselen plasental gonadotropinler üzerinden fetal androjen sekresyonunu artırır. Artan fetal androjen, epididimis, paratestiküler yapıların stabilizasyonu ve muhtemelende testiküler desensusu başlatır(21).

Gebe ratlara uygulanan Sx, maternal EGF düzeyini azaltarak, yavru erkek sıçanlarda Leydig hücre fonksiyonlarını dolayısıylada testesteron seviyesini azaltmaktadır. Buda Sx grubunda saptanan %26 oranında inmemiş testis ve % 39 oranında epididimal anomalilerin muhtemel nedeni oluşturabileceğini düşündürmüştür.Histolojik değerlendirmelerde Sx grubunda saptanan Leydig hücre

sayısındaki azalma, azalmış maternal gonadotropinlerin muhtemel etkisiyle açıklanabilir. Bu hipotez Sx grubundaki gebelik boyunca düşük maternal gonadotropinlerin expozürü, düşük testesteron salınımını destekler.

Postnatal 60. günde hormon seviyelerine bakıldığında (Tablo-II) Sx grubunda kontrol grubuna oranla hormonal düzeyde anlamlı bir farklılık bulamışımızı Leydig hücrelerinde sayısal (kantitatif) değişimin Leydig hücre fonksiyonların kalitatif yönde yansımadığı şeklinde tanımlanabilir.

Testiküler desensusta Douglas ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada gubernakular formasyonun gebeliğin 13-15. gününde gerçekleştiği gubernakular kordta önemli derecede kısalmanın gebeliğin 17.gününde olduğu, gubernakuler mezenşim ise gebeliğin 20.gününde kaybolduğunu göstermişlerdir. Bu dönem transtestiküler desensusun transabdominal dönemini tamamlamasıdır.

Postnatal 3-4.gün mezenşimal kon'un tamamen kayboluşu ve gubernekulum kon'un (kremaster kası+gubernekulumun intraabdominal parçası) eversiyonu tamamlaması gerçekleşir (Şekil-2). Dolayısıyla testislerin skrotuma ineceği 21.güne kadar postnatal 4.günden itibaren gerçekleşecek hiçbir morfolojik değişiklik kalmamaktadır. Bu çalışmada da görüldüğü gibi ratlarda testiküler desensusu ilgili morfolojik değişikliklerin çok büyük bir bölümü prenatal periyotta tamamlandığını bilmekteyiz.

Sx grubunda testiküler desensusu ve morfolojik anomalilerin gelişimine rağmen 60.gün elde edilen sirküle edilen hormon seviyelerinin kontrol grubuna farklı olmaması morfolojik değişimin gerçekleştiği, prenatal periyotta fetal testesteron seviyesinin yaşamsal önemi vurgular niteliktedir.

Postnatal periyotta normal seviyeye ulaşan testesteron ve testiküler desensusu kompanse etmeye, geçte olsa gerçekleşmesine hemde epididimal anomalileri lehine çevirmeye yetmediği ortadadır.

Erken gubernakuler büyüme fazında uygulanan flutamide prenatal olarak, sıçanlarda testiküler desensusu parsiyel veya tamamen inhibe eder. Böylesi androjen blokajı gubernakulumun farklılaşması gebeliğin 16-19. günleri arasında uygulandığında testiküler desensusa maksimum etkilidir.

Flutamide gubernakulumun farklılaşmasının ilk günlerinde uygulandığında minimal gelişimi sağladığı, 18-19 günden sonra uygulandığında hemen hemen hiç etkili olmadığı bilinmektedir (11).

Çalışmamızda, gebe ratlara flutamide uygulanması gebeliğin 11.gününde başlayp ve gebeliğin 21.gününe kadar devam edilmiştir. Yavru sıçanlarda bu grupta %38 inmemiş testis, %46 epididimal anomalileri saptadık (Tablo-I). Bu bulgularımız literatür verilerini destekler niteliktedir (22,23).

Hormonal değerlendirmeler açısından bakıldığında, flutamide yavru sıçanlarda prenatal dönemde testesteron ve LH seviyesinde artışa neden olur (Tablo-II). Bunun nedeni testesteron ile kompetatif antagonizma gösteren flutamide'in LH üzerine negatif feed-back'ini engellemesi nedeniyle (7). Bu paraleilde flutamide grubu yavru sıçanların testis kesitlerinde Leydig hücre proliferasyonunu saptadık.

Çalışmamızda Sx+F grubunda, testesteron seviyesinde bariz yükselme, LH seviyesinde Kontrol, Sx, F grubuna oranla çok daha ileri bir değişiklik saptanmadı. Bu gruba ait denek hayvanlarında % 36 inmemiş testis ve % 42 epididimal anomalilere rastlandı (Tablo-I).

Sx+F grubunda görülen epididimal anomaliler ve inmemiş testis oranları Sx grubundan anlamlı derecede farklı bulunmamasına F grubunda istatistiki olarak anlamlı farklılık göstermemiştir. Bu durum Sx+F grubunda testis ve epididimis anomalilerin Flutamide yönünden baskılandığını gösterir (10).

Daha önce kriptorşidi ile ilgili yapılan çalışmalarda tubul çaplarında düşüş ve peritubuler fibrozis tesbit edilmiştir (24).

Oküler mikrometre ile yapılan ölçüm sonucu seminifer tubul çaplarının elde edilen verileri istatistiksel olarak Student's- t testi ile değerlendirilmesi yapıldı. Buna göre kontrol seminifer tubul çapları ile Sx, F ve Sx+ F grubunun çapları istatistiksel olarak önemli farklar bulunmuştur. Ancak tubul çapının en fazla düşüş gösterdiği Sx+F grubunda olduğunu vurgulamak isteriz. Bu bulguya Grafik-9'da işaret edilmiştir.

Aynı yöntemle ölçülen epididimise ait kanal çapları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında F ve Sx grubu arasında istatistiksel fark bulunmuştur. Sx+F grubuna ait epididim kanal kesitleri ileri derecede atrofik ve sayısal azalma gösterdiğinden istatistiksel değerlendirmeye alınmamıştır (Grafik-10).

Kontrol ve Flutamide gruplarına oranla Sx grubunun epididimis kanal çaplarında belirgin bir düşme gözlemlendi.

Kontrol grubunda spermatogenetik hücrelerin tüm kademelerine rastlanmasına karşın (Resim-6c), Sx grubunda spermatosit-II seviyesinde arrest (Resim-7a), F

grubunda spermatosit-I seviyesinde (Resim-8d) arrest durum Sx+F grubunda ise seminifer tubul epitelden tamamen yoksundu (Resim-9a).

Spermatosit-I ve II seviyesindeki bu arrest durum mayozun sekteye uğradığına işaret etmektedir. Bu durum Tsutsumi ve arkadaşlarının (3) yaptıkları çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Spermatogeneziste rastlanan mayozun sekteye uğraması maternal EGF nin eksikliğine bağlı olduğu düşünülmektedir (5).

Flutamide grubuna ait testis kesitlerinde spermatogenetik hücrelerde hiposölularite, Sertoli hücrelerinde artış ve spermatosit-I seviyesinde arrest durum izlendi buna ait bulgular Resim 8b,c,d' de gösterilmiştir.

Periodic acide shiff (PAS) ile boyanan testis kesitlerinde seminifer tubullerin bazal laminaları kontrol, Sx ve F grubunun bazal laminalarında herhangi bir kalınlaşma izlenmedi (Resim-6a,7c,8a).

Sx+F grubuna ait seminifer tubullerin bazal laminalarında belirgin kalınlaşma görüldü (Resim-9a). Sx+F 'de izlenen bu bazal lamina kalınlaşması daha önce yapılan çalışmalara (12) paralellik göstermesine karşın, Sx ve F grupları buna tezat teşkil ediyordu.

Daha önce yapılan deneysel çalışmalarda, seminifer tubullerin bazal laminaları üzerinde rastlanan yegane hücrelerin Sertoli hücreleri olduğu ve peritubuler fibrozisi biz çalışmamızın Sx+F grubunda izledik (Resim-9a).

Normal gelişimini tamamlamış bireylerde epididimisin testisten ayrı durması düşünülemez. Bu durum ancak embriyolojik gelişim hatası sonucu gelişebilir.

Follin'in yaptığı klinik gözlemler sonucu bazı vakalarda testis ve epididimis kısmen, bazı vakalarda ise tamamen birbirinden ayrı duracağını tespit etmesine karşın Gonard ve Windholtz tam bir ayrışma yerine globus major yardımıyla birbiryle bağlantılı olduğunu vurgulamışlardır (9).

Testis ve epididimisin birleşmesi gerçekleşmediği durumlarda epididimis tek başına skrotumda yer alabilir ve testis anormal pozisyonudadır (25).

Sx, F, Sx+F gruplarının tümüne ait epididimal kanal kesitlerinde spermiumların bulunmaması, spermatogenezis, spermatosit-I veya spermatosit-II seviyesinde arrest durumu ile açıklanabilir. Spermatogenezisteki bu patoloji maternal EGF 'den yoksun oluşu ve gebeliğin 11-21. günleri arasında anneye Flutamide uygulaması ile ilgilidir.

Maternal EGF yokluğu ve Flutamide uygulamasına bağılı olarak tüm gruplarda meydana gelen epididimal anomalilerde, epididimal kanallarının atrofik olduğu görüldü (Resim-11a,12a).

Sx+F 'nin kombine uygulandığı grupta epididimisin parankimal yapısı silüet halinde izlenirken, interstiteel fibrozis çok barizdi. Bu durum Flutamide'in etkisinin predominant olduğu ile izah edilebilir (Tablo-I).

Sx ile F grubuna ait epididimal kanal duvarında görülen papillamsı yapılar ve mukoza epitelinde metaplazi çalışmamızın epididimise ait ilginç bulgularındandır (Resim- 11b,12b).

Genel olarak tüm denek gruplarında epididimal kanallarda atrofi ve fibrozis belirgin olmasına karşın bu durum Sx+F grubunda parankimal yapıların silüet halinde izlendiğini vurgulamak isteriz (Resim-13).

Sonuç olarak, embriyolojik gelişiminde maternal gonadotropinlerin testiküler desensusu ve epididimal anomaliler üzerine etkisi postnatal periyotada normal seviyelerine ulaşan androjenlerle geriye dönüştüremeyen ve kompanse edilemeyen morfolojik değişikliklere yol açar.

ÖZET

Çalışmamızın amacı, maternal epidermal growth faktör ve gebeliğin 11-12. günleri arasında uygulanan antiandrojenin testis ve epididimisin gelişimi üzerinde etkilerini araştırmaktır.

Bu amaç için erişkin 40 adet dişi Sprague-Dawley rat kullanıldı. Denek hayvanları biri kontrol olmak üzere 4 eşit gruba bölündü.

Grup-I'deki dişi ratlar kontrol olarak kullanıldı.

Grup-II'deki dişi ratlar sialoadenektomi yapılarak, 28.günde çiftleştirildi.

Grup-III'teki dişi ratlar çiftleştirildikten sonra gebeliğin 11-21.günleri arasında flutamide uygulaması yapıldı.

Grup-IV'teki denek hayvanlarına sialoadenektomi ve gebeliğin 11-21.günleri arasında flutamide uygulaması kombine yapıldı.

Deneye alınan tüm dişi ratlardan doğan erkek yavrular, doğumu müteakip 22.günde kriptorşidi ve epididimal anomaliler yönünden değerlendirildi. Doğumdan sonra 60.günde denek hayvanları sakrifiye edilerek serum hormon değerleri için intrakardiyak yolla kanları alındı, ayrıca vücut ağırlıkları ve erkek genital organ ağırlıkları ölçüldü. Daha sonra testis ve epididimisten doku örnekleri alınarak, rutin histolojik yöntemlerle elde edilen parafin kesitleri H-E, Hematoksilen-Van Gieson, Masson tripplé, PAS ile boyanarak mikroskopik değerlendirilmesi yapıldı. Bütün denek gruplarında testis ve epididimis anomalileri gözlenmesine karşın, en fazla epididimal anomali ve kriptorşidi flutamide grubuna gözlemlendi.

Denek gruplarının serum hormon değerlerinden FSH ve LH 'da bariz değişiklik gözlenmezken, testesteron düzeylerinde artış saptandı. Denek gruplarının seminifer tubul ve epididimal kanal çaplarındaki en belirgin düşüş Sx+F grubunda izlendi. Testise ait preparatların mikroskopik incelenmesinde, Sx grubunda spermatosit-II seviyesinde, Flutamide grubunda spermatosit-I seviyesinde arrest durumu, Sx+F grubunda ise spermatogenetik hücre izlenmemesi ve tipik testiküler atrofi tablosu barizdi. Epididimise ait kesitlerde ise, epididimal kanallarda atrofi ve lumenlerinde spermatozoa'nın bulunmayışı yanında interstitiel ödem, mukoza epitelinde metaplazi ve interstitiel fibrozis tablosu hakimdi.

Sonuç olarak, embriyolojik gelişiminde maternal gonadotropinlerin testiküler desensusu ve epididimal anomaliler üzerinde postnatal periyotada normal seviyelerine ulaşan androjenlerle geriye dönüştüremeyen ve kompanse edilemeyen morfolojik değişikliklere neden olmaktadır.



SUMMARY

In the study our purpose to determine the effect of sialoadenektomy (Maternal Epidermal Growth Factor deficiency) and antiandrogen (Flutamide) administration on testicular descent, epididymal abnormalities and testicular function.

Twelve weeks old sexually mature and pregnant female Sprague-Dawley rat were chosen as four animal model. They were divided into four groups ; Group-I : Control groups, Group-II : Sialoadenektomized , Group-III : Flutamide treated, Group-IV : Sialoadenektomy + Flutamide treated.

After the birth, all male rats were observed morphologically at 22 days and sacrificed at 60 days postpartum under ether anaesthesia. Necropsy was performed. Localisation testes and presence of epididymal abnormalities were carefully noted. Blood samples were taken and serum levels of LH,FSH,testosterone were determined with double antibody RIA methods.

Histological sections testis and epididymis were taken and stained with H-E, Hematoxylin-Van Gieson, Masson Triple, PAS. Histological changes and quantitative of spermatogenesis were examined under light microscope. Except control group, testes and epididymal abnormalities were observed all groups at various rates.

The highest testis and epididymal abnormalities were determined in flutamide treated group.LH and FSH levels were normal in all groups but circulating testosterone levels significantly increased in F,Sx+F groups.

Obviously reduced seminiferous tubules and epididymal tubules diameter was observed in group-III-IV.

Histological examination revealed that spermatogenesis arrest at spermatocyte-II level in Sx group, spermatogenesis arrest at spermatocyte-I level in F group, severe hypospermatogenesis and testicular atrophy in Sx+F group. Histological section of epididymis show that tubular atrophy and absence spermatozoa in lumen, interstitial oedema, epithelial metaplasia and interstitial fibrosis.

As a result, the maternal gonadotropins effect testicular desensus and wolffian duct system stabilisation lead morphologically abnormalities that can not be compensated with normal androgen level in postpartum period.



KAYNAKLAR

- 1.Liu,A., Flores,C., Kinkead,T., Carboni,A.A., Menon,M., Seethalakshmi, L.:Effects of Sialoadenectomy and Epidermal Growth Factor on Testicular Function of Sexually Mature Male Mice.The Journal of Urology, 152 : 554-561,1994.
- 2.Kurachi,H., Oka,T.: Changes in Epidermal Growth Factor Concentrations of Submandibular Gland, Plasma and Urine of Normal and Sialoadenectomized Female Mice During Various Reproductive Stages. Journal Of Endocrinology, 106 : 197-202,1985.
- 3.Tsutsumi,O., Kurachi,H., Oka,T.: A Physiological Role of Epidermal Growth Factor in Male reproductive Function. Science, 233:975-977, 1986.
- 4.Russel,L.D.Weis,T.,Goh,J.C.,Curl,J.L. and Liu,A.L.: The Effect of Submandibular Gland Removal on Testicular and Epididymal Parameters.Tissue Cell,22:263,1990.
- 5.Cain, M.P.,Kramer, S.A.,Tindall, D.J.,Husmann, D.A.: Alterations in Maternal Epidermal Growth Factor (EGF) Effect Testicular Descent and Epididymal Development. Pediatric Urology.43 (3):375-378,1993.
- 6.Jacob,R. : Congenital Anomalies of The Testis.In Campbell's Urology (Patric C. Walsh Edt.), 1992, Philadelphia, 6 th edition W.B. Sanders, 3 : 1543-1552.
- 7.Gilman,A.G., Rall,T.W., Nies,S.A., Taylor,P.: The Pharmacolical Basis of Therapeutics , Eighth Edition, Pregamon Press,1990, Dallas,Texas :1427-1429.
- 8.Traniner, T.D.: Histology of The Normal Testis.Am.J. Surg.Pathol.11:797,1987.
- 9.Davis, E.L.,Shpall, R.A., Goldstein, A.M.B. and Morrow, J.W.: Congenitally Uncoiled Epididymis in A Cryptorchid Testicle.The Journal of Urology, 111: 618-620, 1974.
- 10.Douglas A.Husmann and Michael J. McPhaul : Reversal of Flutamide-Induced Cryptorchism by Prenatal Time-Spesific Androgens. Endocrinology, 131 (4) : 1711-1715,1992.
- 11.Julia, R.S.,Torrado,T., Ramon,S.: Effects of Flutamide and Finasteride on Rat Testicular Descent. Endocrinology, 129 (2) : 741-748, 1991.
- 12.Fray, F.M., Dennis W.S.: Epididymal Abnormalities Associated with Undescended Testis.The Journal of Urology, 121: 341-343,1979.
- 13.Heath,A.L., Man,K.W., Eckstein,H.B.:Epididymal Abnormalities Associated with Maldescent of The Testis.Journal of Pediatric Surgery.19 (1) :47-49,1984.

- 14.**Tuffer,A.A.: Laboratory Animals: An Introduction for New Experimenters, Great Britain, : 247,287-290,1987.
- 15.**Reynolds. G.,Handbook of Histological Techniques, 2 nd edition, Department of Histopathology, 1990, London, 5-36.
- 16.**Ali,P.,Smart J.L. and D'Souza S.W.: Epidermal Growth Factor Reseptors in Rat Placenta,Amnion and Yolk Sac: Characteristics of Specific Binding are Dependent on Gestational age.Placenta.10:589-595,1989.
- 17.**Oberbauer, A.M.,Linkhart T.A.,Mohan,S. andLongo,L.D.: Fibroblast Growth Factor Enhances Human Chorionic Gonadotropin Synthesis Independent of Mitogenic Stimulation in Jar Choriocarcinoma Cells.Endocrinology.123:2696-2700,1988.
- 18.**Morrish,D.W.,Bhardwaj,D.,Dabbagh,L.K.,Marusyk ,H. and Siy,O.:Epidermal Growth Factor Induces Differentiation and Secretion of Human Chorionic Gonadotropin and Plecental Lactogen in Normal Human Placenta.J.Clin Endocrinol Metab.65:1282-1290,1987.
- 19.**Maruo,T.,Matsuo,H.,Murata,K. and Mochizuki,M.:Gestational age depende Dual Action of Epidermal Growth Factor on Human Placenta Early in Gestation.J.Clin Endocrinol Metab 75:1362-1367,1992.
- 20.**Morrish,D.W.,Bharwaj,D.and Paras,M.T.: Transforming Growth Factor β 1 Inhibitis Plasental Differentiation and Human Chorionic Gonadotropin and Human Placental Lactogen Secretion.Endocrinology.129:22-26,1991.
- 21.**Cain,M.P.,Kramer,S.A.: Epidermal Growth Factor Reverses Antiandrogen Induced Cryptorchidism and Epididymal Development.J.Urol.152 (2):770-775,1994.
- 22.**Elger,W.,Richter,J.,Korbe,R.:Failure to Detect Androgen dependence of Decensus Testicularum in Fetal Rabbits, Mice and Monkeys Urban and Schwarzenberg,Baltimore.187-190,1977.
- 23.**Neumann,F.,Von, Berswandt-Waltrabe,R.,Elger,W.,Steinbect,H.:Aspects of Androgen Dependent Events As Studies by Antiandrogens.Recent Prog Horm Res.26:337-410,1970.
- 24.**Mancini,R.E., Rosenberg,E., Cullen,M.: Cryptorchid and Scrotal Human Testes. I. Cytological, Cytochemical and Quantitative Studies. J. Clin Endocr 25: 927-942, 1965.

25.Archie,L., Dean,J.R., Ames,W.M. and Edward J.O.: Failure of Fusion of the Testis and Epididymis. The Journal Of Urology, 68 (4) : 754-758, 1952.



T.C. YÜKSEKÖĞRETİM VE
DENEYİMİN MÜHÜRÜ

