

TEŐEKKÜR

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleőtirdiđim yüksek lisans eğitimim süresince bana emek veren ve yönlendiren, tez çalıőmam sırasında katkısını hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Müberra UYGUN'a sonsuz teőekkürlerimi bildirmeyi borç bilirim.

Bu çalıőmanın gerçekleőmesinde büyük desteğini gördüğüm İ.Ü. Cerrahpaőa Tıp Fakóltesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Faruk ALKAN'a ve tez çalıőmamda kullandığım ilacın teminindeki katkılarından dolayı Bayer İlaç San. ve Tic. A.Ő.'ne teőekkürü bir borç bilirim.

Desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ailemin ve dostlarımla yardımcılarımla Őükranla belirtmek isterim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	: 1
GENEL BİLGİLER	: 4
GEREÇ VE YÖNTEM	: 8
BULGULAR	: 10
IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK FOTOĞRAFLAR	: 21
TARTIŞMA VE SONUÇ	: 39
ÖZET	: 47
SUMMARY	: 49
KAYNAKLAR	: 51
ÖZGEÇMİŞ	: 56

GİRİŞ VE AMAÇ

Hormonlar vücudun belirli dokularında yapılan özel yapı ve özel etkiye sahip steroid, amino asit, amino asit bileşiği olan peptid, protein türü maddelerdir (53).

Seks hormonları; her iki cinsten kadın ve erkek sekonder seks karakterlerinin oluşumunu ve devamını, üreme organlarının büyüme ve gelişimini, daha sonra da üreme siklusunu sağlayan steroid yapıda hormonlardır. Seks hormonları "androjenler" ve "östrojenler" olmak üzere iki gruba ayrılır.

Erişkin testisten salgılanan bir tür steroid olan testosteron erkeklerde; genlerin regülasyonunu, cinsel farklılaşmayı, spermatogenezisi, sekonder seks organlarını ve onların aksesuar yapılarının gelişimini, erkek tipi davranışları, anabolik metabolizmayı etkiler (4, 33, 36, 42, 44, 55).

Hipogonadizm olarak tanımlanan testosteron sentezinin azlığı, puberteden önce meydana geldiğinde sekonder seks karakterlerinin gelişimini zayıflatır, erişkinlerde ise bu karakterlerden çoğunun geri çekildiği görülür (39).

Östrojenlerin etkisi ise hayvan türlerine, sekse, üreme safhalarına ve doku tipine bağlı olarak değişir. Bu değişimin derecesi östrojen verilmesinin miktarına, süresine ve şekline bağlıdır (7).

Günümüzde seks hormonlarının kullanım amaçlarından biri de karşı cinsin "anti" etkisinden faydalanılarak, karşıt genital organlarda yapacağı gerileme düşüncesi ile kanser tedavisinde kullanılmasıdır. Östrojen içermekte olan birçok farmasötik madde, "anti" etkisinden

ötürü, prostat kanserlerinin tedavisinde kullanılmaktadır (12, 32, 33). Ancak bu madde prostat hücreleri üzerinde gerileme oluştururken, normalde organ fonksiyonu esnasında salgılanan bezlerin sekresyonunu da azaltacağından organizmada, bazı değişikliklere neden olur ki bu değişiklikler; libido azalması (12, 24, 33, 36, 50), kısırlık (8, 9, 12, 16, 33, 36, 37, 45, 47, 50), jinekomasti (9, 12, 32, 33, 47) ve benzeri değişikliklerdir.

Östrojenlerin sistemik antiandrojenik etkisi; hipofizial gonadotropin sekresyonunun azalması (41), nedeni ile testiküler androjen sekresyonunun indirekt inhibisyonu, testiküler androjen sekresyonunun direkt inhibisyonu ve testosteron bağlayıcı β -globulinin gücünün yükseltilmesi ile açıklanabilir (13). Östrojenler, erkeklerde testosterona antagonist etkileriyle (46), LH ve testosteron düzeylerinin azalmasına neden olurlar (12, 13, 33, 43, 46, 56); bu etkilerinin ise hipofiz gonadotropinlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (13, 26, 27, 37).

Çeşitli memeli türlerinin erkek genital sistemleri üzerine östrojenlerin etkilerinin araştırılması ilk defa 1947 yılında Emmers ve Parkes'in yaptığı çalışmalarla başlar(14). Daha sonra 1948 yılında Thornberg'in de bu konu üzerine eğildiği görülür (54).

1955'de Bacon ve Kirkman, hamsterlerle yaptıkları çalışma sonucu, östrojen verilen hamsterlerin testislerinde; östrojenin direkt etkisiyle endokrinopatik lezyonların ortaya çıkabileceğini ileri sürdüler (2).

Östrojenlerin erkeklik hormonları üzerine "anti" etki yapacağı düşüncesiyle prostat kanserlerinde kullanımı ise ilk defa 1941'de, Huggins ve Hodges tarafından ortaya atılmıştır (23).

Daha sonra 1981'de Glode ve arkadaşları tubulus seminiferus contortus epitelindeki

germinal hücre bölünmesinin, hipofiz gonadotropin sekresyonunun baskılanmasıyla azalabileceğini, bu nedenle de östrojenlerin normal testis için sitotoksik etkili ilaçlar olabileceğini ileri sürdüler (19).

Biz de germinal hücrelerin çoğaldığı ve spermatozoide farklılaştığı testislerde; karşıt etkili östradiolün, germinal hücre çoğalma ve farklılaşmasında ne gibi etki yapacağını görmek amacıyla bu çalışmayı planladık.

Testis üzerine östrojen etkilerini inceleyen araştırmalar arasında yaptığımız kaynak taramalarında, yapılan çalışmaların hemen hemen hepsinde germinal hücrelerin ara etapları hakkında bilgi verilmeden, sadece sonuç olarak "spermium sayısında azalmaya neden olduğunun" yazıldığını gördük.

Bu ara etaplardaki germinal hücre değişikliklerinin esas bölünmelerden saparak nasıl ortaya çıktığı ve ne gibi farklı yapılara neden olduğunu göstermek amacıyla, erkeklik hormonlarına zıt etkili östrojenleri, karşı cinse vermeyi düşündük.

Bu amaç için kullanacağımız deney grubu hayvanlarını; insan türüne yakın üreme sistemine sahip olmasının yanı sıra, bakım ve beslenmesindeki kolaylıktan ötürü de Wistar tipi sıçanlardan oluşturmayı planladık.

GENEL BİLGİLER

Başlıca doğal östrojenler; östradiol, östron ve östrioldür (15, 44). Bunlardan vücutta en fazla sentezleneni ve östrojen etkinliğinden sorumlu olanı ise östradioldür (12, 21, 42, 44).

Östrojenlerin çoğunun; dişilerde overde, erkeklerde az miktarda testiste, her iki sekste ise adrenal kortekste sentezlendiği görülür (12, 44).

Dişide menstrüasyon döneminde salgılanan günlük östradiol miktarı yaklaşık 60-70 µg, ovulasyondan önce 400-800 µg, luteal dönem ortasında ise 250 µg kadardır; salgılanmasındaki siklik özelliği dolayısıyla, plazmadaki östradiol düzeyi değişir. Gebelerde plasentanın ve ayrıca fötüsün sürrenal bezlerinin de östrojen salgılamasından ötürü anne kanındaki östrojen miktarı artar (33).

Erkeklerdeki östrojen düzeyi, yükselmeler haricindeki kadın östrojen düzeyi ile hemen hemen aynıdır (33).

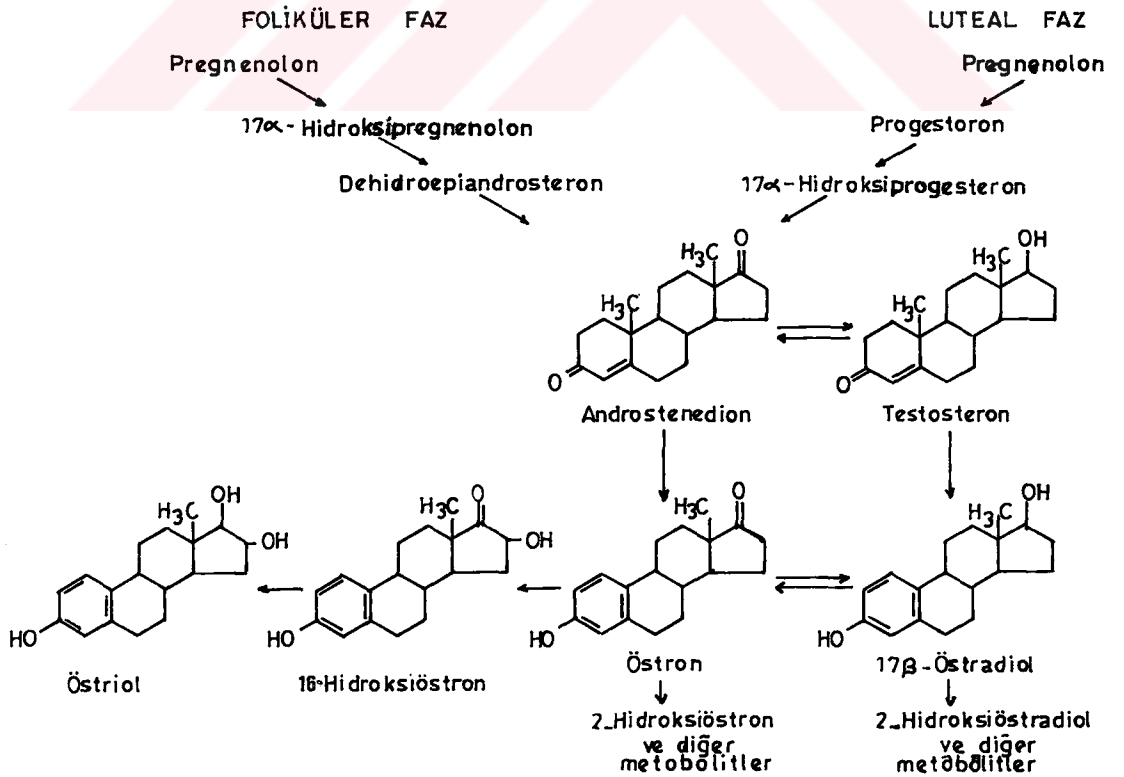
Deney grubu hayvanlarımıza verdiğimiz bir tür östrojen bileşiği olan "17α-ethynyl-1,3,5(10)-estra-triene-3,17β-diol" maddesinin organizmaya alındığında; "organizmadaki etki mekanizmasının, geçireceği transformasyonları ve bu arada ortaya çıkacak türevlerinin etkilerinin de göz önüne alınması gerektiği" düşüncesiyle östrojenlerin metabolizması hakkında bilgi vermeyi uygun bulduk.

Erkeklerde; östradiol, aromataz enziminin katalitik etkisiyle direkt olarak

testosteronun ve onun prekürsörü olan androstenedionun östrona, bu östronun bir miktarının ise dokularda östradiola çevrilmesiyle ortaya çıkar (4, 33). Erkeklerdeki, östradiolün %80'i testosteronun dönüşümüyle meydana gelir (4).

Dişide östrojenlerin büyük bir kısmı; ovariumun, theca internasında sentezlenir (4, 6, 42, 55). Ovariumdaki bu sentezde, östrojen prekürsörleri, androjenik maddelerdir; şöyle ki androstenedion ovariumda bir miktar östrona, bir miktar da testosterona dönüştürülür; testosteron ise dimetilasyon ve aromatisasyon sonucu östradiole çevrilir (33).

Oral yolla alınan östradiol sindirim mukozası tarafından absorbe edilip (12), karaciğerde inaktif hale geçer (12, 21, 44). Karaciğer ve diğer dokular tarafından meydana getirilen östradiol ve östron birbirlerine dönüşebildikleri gibi, ayrı ayrı da östradiol, 2-hidroksiöstradiol ve diğer metabolitlerine; östron ise 2-hidroksiöstron ile diğer metabolitlerine veya 16-hidroksiöstron üzerinden östriole dönüşür. Karaciğerdeki bu dönüşüm aşağıda şematik olarak gösterilmiştir (5, 17, 20, 31, 44, 55).



Östradiol, östron ve bunlardan oluşan östriol, karaciğerde sülfürik asit ve glukronik asitle konjuge edilerek inaktif hale geçer. Bu konjugatların çoğu safra ile enterohepatik sıklusa girer, çok az bir miktar feçes ile, bir kısmı ise böbreklerden idrar yoluyla atılır. İdrarla atılan günlük östrojen miktarı siklus sırasında 20 ile 80 µgr arasında değişir. İdrar içinde mevcut östriol / (östradiol + östron) oranı ise yaklaşık 1' dir (33).

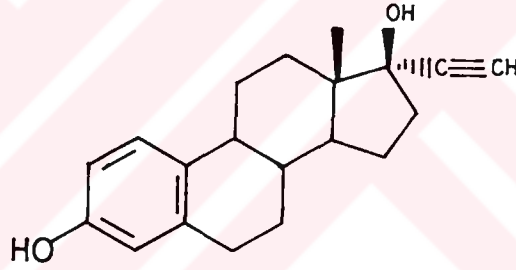
Östrojen hormonları plazmada seks hormonu bağlayıcı globulin (SHBG) olan β-globuline bağlanır (12, 33, 44, 55). Östradiolün yaklaşık %80'i SHBG'ye, az bir miktarı albumine bağlı olup, % 2'si ise serbest haldedir. Karaciğerde yapılan bu bağlayıcı globulin sentezi, östrojenler tarafından artırılır; artma, sentez yapan enzimlerin indüksiyonu ile olur. Aynı globulin erkeklerde testosteronu bağlar, testosteron ise testosteron bağlayıcı globulin (TEBG)'e bağlanır. Molekülün hormonal etkinliğe sahip olan kısmı, serbest östrojen fraksiyonudur (33) .

Androjenler (özellikle testosteron) hücre içerisinde protein sentezini artırıcı yönde etki eder.Genel olarak östrojenik hormonlar metabolizmayı hızlandırır.Karaciğerde ise yağ birikimini önleyici etkileri vardır (57).Estrojenler bu etkilerini hedef olan hücreye ulaştıktan sonra, androjenlerde olduğu gibi sitoplazmada reseptör proteinle birleşip nükleusa geçerek, orada DNA sentezini ve transkripsiyon olayını hızlandırarak yani mRNA sentezini artırıp, protein biyosentezini çoğaltarak yaparlar (6).

Estrojenlerin protein sentezi ve anabolik etki yönünden androjenlerden farkı: androjenlerin genelde tüm vücutta metabolizmayı hızlandırıp, protein sentezini

arttırması; östrojenlerin ise bu fonksiyonlarını uterus (57), göğüsler, cilt, iskelet, vagina üzerinde yapmalarıdır (6).

Çalışmamızda kullandığımız, en etkin oral östrojenlerden biri olan etinil östradiol (51), " 17 α -ethynyl-1,3,5(10)-estra-triene-3,17 β -diol " açık formülü ile ifade edilir. Sentetik steroidlerden olan etinil östradiol oldukça sık kullanılan bir östrojen türevidir olup, etkinliği yaklaşık olarak parenteral verilen östradiole eşittir (33) ve organizma tarafından diğer östrojenlere oranla daha hızlı absorbe olur. Yıkımı yavaş olduğundan etkisi uzun sürer (33).



ETİNİL ÖSTRADİOL

Hafif sarımsak, beyazımsı kristalize toz halinde bulunur; eter, aseton, 96'lik etanol ve 1,4 dioksan içerisinde kolaylıkla, kloroform, sulu alkali hidroksit çözeltilerinde ise güç olarak çözünür; suda hemen hemen hiç çözünmez.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (DETAM) 'nde üretilmiş, ortalama ağırlığı 200-250gr. olan, 3,5 aylık, aynı soydan 15 adet Wistar tipi erkek sıçan kullandık . Kontrol grubunda 3, deney gruplarında 6' şar olacak şekilde; deneklerimizden 1 kontrol, 2 deney grubu oluşturduk .

Aynı biyolojik ve fizyolojik koşullar altında tuttuğumuz kontrol ve deney grubu hayvanlarımıza, 2 ay süreyle farklı dozlarda etinil östradiol (17α -ethynyl -1,3,5(10)-estra-triene-3,17 β -diol) (BAYER İlaç San. ve Tic. A.Ş.) uyguladık.Bunun için, kristalize haldeki bu maddeyi dimetilsülfoksit (MERCK) içerisinde, ml'sinde 0,000416 mg etinil östradiol içerecek şekilde eriterek, deney gruplarımıza vermek üzere hazırladık ve deneklerin vücut ağırlıklarına göre 0,0005 mg/kg (250gr'lık bir hayvan için 0,000125 mg) olarak uyguladık; bu uygulamada 2 ay süre ile intraperitoneal olarak hayvan başına 0,3 cc çözeltiyi; 1.deney grubu hayvanlarına gūnaşırı, 2.deney grubu hayvanlarına ise her gün verdik.

Uygulamadan 2 ay sonra, ışık ve elektron mikroskopik gözlemlerimiz için; eter anestezisi uyguladığımız kontrol ve deney grubu hayvanlarımızın testislerinin aynı bölgelerinden biyopsi materyalleri aldık .

Işık mikroskopik çalışmalarımız için; aldığımız parçaları Bouin fiksatoründe fikse ettikten sonra, rutin mikroteknik işlemleri uyguladık (3, 22). Elde ettiğimiz bloklardan 5 μ

kalınlığındaki kesitleri uygun boyalarla (3, 22) boyadık .

Elektron mikroskopik gözlemlerimiz için ise aldığımız 1mm³ lük biyopsi materyallerini, pH'sı 7,3 olan fosfat tamponunda hızlı bir şekilde yıkayarak, bu tamponla hazırlanmış %3' lük glutaraldehit (MERCK) çözeltisinde 1,5 saatlik bir prefiksasyona koyduk. Daha sonra aynı tamponda 24 saatlik yıkama işlemi yaptık. Bu tamponun %1'lik OsO₄ (MERCK) çözeltisinde, parçalarımıza bir saatlik postfiksasyon uyguladık. Dehidratasyon ve saydamlaştırmanın arkasından, kapsüller içerisinde araldit (FLUKA) gömme ortamına yerleştirdiğimiz parçalarımızın bloklarını yaptık. 200 A° kalınlığında Reichert UM2 ve UM3 ultramikrotomda kesit alıp, bunları Cu gritler üzerine yerleştirdik. Gözlemlerimizde kontrastı arttırmak amacıyla uranil asetat ve Reynold'un kurşun sitrat boyalarını uyguladık (22).

Işık mikroskopik gözlemlerimizi fotoğraf makine ataşmanlı Olympus BH-2 mikroskopunda, elektron mikroskopik gözlemlerimizi ise Zeiss EM 9 ve Zeiss EM 10'da gerçekleştirdik .

BULGULAR

2 ay süre ile günlük ve gūnaşırı 0,0005 mg/kg'lık dozlar halinde etinil östradiol verdiğimiz sıçanlar ile kontrol grubu sıçanlarının, testis kesitlerini ışık ve elektron mikroskopik düzeyde inceledik. Kontrol grubu testis gözlemleri ile etinil östradiol almış sıçanların testis gözlemlerini karşılaştırdığımızda, tubulus seminiferus contortuslarında ve interstisyel sahalarda; alınan madde miktarına bağlı olarak, giderek artan bazı değişikliklere rastladık.

Gözlemlerimizi ,

A)Kontrol grubu hayvanlarının bulguları,

B)Gūnaşırı 0,0005 mg/kg etinil östradiol verilen grubun bulguları,

C)Günlük 0,0005mg/kg etinil östradiol verilmiş grup hayvanlarının bulguları olarak topladık.

A)Kontrol Grubu Bulguları ,

a/Işık Mikroskopisi;

Kontrol grubuna ait bir testis kesiti ışık mikroskopunda incelendiğinde; tubulus seminiferus contortus çaplarının birbirine yakın olduğu (Resim:1), germ hücrelerinin tübül lümenine doğru sırasıyla, spermatogoniumdan spermatozoide kadar geliştiği görölmektedir (Resim: 1, 2, 3, 4, 5). Bazal membran üzerine oturan piramidal şekilli Sertoli hücresinin armut veya üçgen şeklindeki nükleusunun tabana yakın ve gevşek

kromatinli olduğu (Resim:1, 2, 3, 4, 5);spermatogoniumların bazal membranın hemen üzerinde, Sertoli hücresi sitoplazması dışına yerleştiği (Resim: 1, 2, 3, 4, 5), onların üst katmanlarında ise sırasıyla spermatozoid-I ve II'lerin Sertoli hücresi sitoplazma kıvrımları arasına sokulduğu (Resim:2, 3, 4, 5); spermatid ve olgunlaşmalarıyla ortaya çıkan spermiumların ise lümene yakın, kuyrukları lümene doğru, Sertoli hücre sitoplazmasına başını sokmuş adeta bir "germ başağı" oluştururcasına yer aldıklarını görüyoruz (Resim:1, 2, 3, 4, 5).

Bazal membran, normal kalınlıkta olup, kollagen liflerin arasında tek tük fibroblastlara ve miyoid hücelere rastlanmaktadır (Resim:3, 4, 5).Tübüller arasında yer alan interstisyel sahada; kapilerler ve onları saran kübik veya ovoid şekilli, bol sitoplazmalı, gevşek kromatinli nükleusa sahip Leydig hücrelerinin oluşturduğu hücre kordonları veya gruplarına rastlanmaktadır (Resim:1, 2, 3, 4, 5).

Organın tümü, çoğunluğunu kollagen liflerin oluşturduğu, fibroblast ve tek tük düz kas hücreleri ve çeşitli büyüklükte damarların yer aldığı kompakt bir bağ doku kapsülüyle sarılıdır (Resim:1, 4, 5).

b/Elektron Mikroskopisi;

Işık mikroskobunda genel olarak gördüğümüz testis kesitlerini, elektron mikroskobunda incelediğimizde; tubulus seminiferus contortus bazal membranı üzerine oturmuş Sertoli hücrelerinde; oval veya armut şeklinde uzamış üçgenimsi nükleusunun çok sayıda ince kıvrımlar oluşturduğu, az miktarda heterokromatin ve belirgin bir nükleolus içerdiği görüldü.Sitoplazması hücre organellerinden zengin olup; iyi gelişmiş Golgi

kompleksine (Resim:9), çok sayıda ovalimsi uzamış mitokondrilere (Resim:6, 9, 10), bol miktarda düz endoplazmik retikuluma (Resim:6, 7, 9, 10), şekil ve büyüklükleri birbirinden farklı, içlerindeki materyal az veya çok sindirilmiş lizozomlara (Resim: 6, 7, 9, 10) rastlandı.Bitişik Sertoli hücreleri, birbirlerine bağlantı kompleksleri ile bağlı idi (Resim:9) ve apikal sitoplazmalarında çok sayıda mikrotubul ve mikrofilamente rastlanıyordu. Spermatogonium dışında kalan, çeşitli evrelerdeki germ hücreleri genelde Sertoli hücrelerinin apikal veya lateral derin girintilerine yerleşmişlerdi (Resim:9, 10).

Spermatogenezin kaynak hücresi olan spermatogoniumlara; tubulus seminiferus contortus bazal membranının hemen üzerinde, uzun eksenleri bazal membrana paralel olacak tarzda yerleşmiş, oval ya da yuvarlak şekilde rastlanıyordu. Nükleusları koyu renkli (A spermatogonium) veya açık renkli (B spermatogonium) yuvarlak ya da oval şekle sahip olup, sitoplazması hücre organellerinden nispeten fakirdi (Resim: 6).

Spermatogoniumların mitoz bölünmesi sonucu ortaya çıkan spermatosit-I'ler, hücrelerinde oluşan mitoz bölünme safhalarına ait çeşitli kromozomik yapıları içermeleri ve çaplarının büyüklüğü nedeniyle diğer germ hücrelerinden ayrılıyordu (Resim:9). Spermatosit-I'lerden hacimce daha küçük olan spermatosit-II' ler, yuvarlak nükleuslarının heterokromatin içermesiyle göze çarpıyordu .

Spermatogenezin bölünme geçiren son germinal hücresi olan spermatidler, gelişimlerine göre küre veya uzamış şekilli olup, içinde yer yer heterokromatin odakların bulunduğu sentral konumlu bir nükleusa, sitoplazmalarında ise çok sayıda mitokondriye sahipti (Resim:6 ,8, 10).

Daha ilerlemiş dönemdeki spermatid sitoplazmasından geçen kesitte Golgi aygıtının akrozoma dönüşmesi (Resim:7), boyun bölgesinden geçen kesitlerde ise mitokondri ve mikrotubul yerleşimi (Resim:8, 10), kuyruk bölgesi kesitlerinde ise mitokondrisiz mikrotubul yerleşimi izlenmekte idi (Resim:7, 8, 9, 10).

Spermatidin histogenesis geçirmesiyle ortaya çıkan spermiumlar, tubulus seminiferus contortus lümeninde yer almakta olup, yassı armut şeklindeki baş kısmında kromatinden zengin bir nükleus ve akrozom bulundurmakta, boyun bölgesinde bazal plağın arkasında yer alan transversal yerleşimli proksimal sentriol ve longitudinal dizilmiş fibriller içermekte, orta parçada flagellumu ve mitokondrial kılıf yer almakta, spermiumun en uzun kısmını oluşturan kuyruk bölümünde ise flagellumu, fibröz kılıf ve çevresinde plazmalemma ile sarılı çok ince bir sitoplazmik yapıyı bulundurmakta idi.

Tubulus seminiferus contortusun bazal membranında; ince kollagen lifleri ile tek tük fibroblast ve miyoid hücrelerin yer aldığı görülüyordu (Resim:6).

Tübüller arasındaki interstisyel sahada rastlanan Leydig hücreleri; açık renkli yuvarlak nükleus ve belirgin nükleolusa sahip olup, hücre organellerinden zengin sitoplazmasında, özellikle steroid sentezi yapan hücrelerde görülen çok iyi gelişmiş düz endoplazmik retikuluma, tübüler kristal mitokondrilere, lizozomlara ve lipid damlacıklarına rastlanıyordu (Resim:11). İnterstisyel sahada ayrıca zaman zaman fibroblast, mast hücresi, makrofaj, sinir ve kan kapillerleri görülmekteydi.

Organın tümünü saran fibröz bağ dokusu kapsülü; çok sayıda kollagen lif, kapsüle paralel uzanan yassı şekilli miyoid hücre ve fibroblastlar ile çeşitli çapta damarlar

içeriyordu.

B) Günaşırı 0,0005mg/kg Etinil Östradiol Verilen Grubun Bulguları ;

a/ Işık Mikroskopisi ;

Günaşırı 0,0005 mg/kg 'lık dozlar halinde etinil östradiol alan deneklerimizin biyopsi materyallerini ışık mikroskobunda incelediğimizde; tubulus seminiferus contortus çaplarında büyük bir farklılığın ortaya çıkmadığını, ancak tübül bazalinden lümeneye doğru yerleşen germ hücre tabakalarının sayılarında azalma olduğunu gördük (Resim:12, 13, 14, 15, 16, 17).

Bazal membran üzerine oturmuş Sertoli hücrelerinin basık piramidal veya oval şekillerini koruduğu, nükleuslarının gevşek kromatinli olup, belirgin bir veya iki nükleolusa sahip olduğunu, ancak özellikle perinükleolar sitoplazma bölgelerinde sitoplazma yoğunluğunun azalıp, yer yer vakuolleşmelerin ortaya çıktığını gözledik (Resim:14, 15, 16, 17). Normalde Sertoli hücre tabanında yer alan koyu renk nükleuslu spermatogoniumların sayılarında azalma, buna karşın açık renk nükleuslu spermatogonium sayısında bir değişiklik olmadığını saptadık (Resim:13, 14, 15, 16, 17). Tübül boyunca yer alan germ kordonunda spermatosit-I sayısı da değişmemiş , ancak spermatosit-II sayısı azalmış, onların farklılaşmasından ortaya çıkan spermatid sayısında ise bu azalma daha da belirginleşmişti (Resim:13, 14, 15, 16, 17). Tüm bu olumsuzluklara rağmen yine de tubulus seminiferus contortuslarda bir miktar spermatogenezin gerçekleştiği görülüyordu (Resim: 12, 13, 14, 15, 16, 17).

Tübülleri saran bazal membranların hücresel elemanlarında aktivite artışı, hücreler arası ara madde yapımına, özellikle de kollagen lif yapımına yönelmiş olarak görülüyordu

(Resim :14, 15, 16,17).

İnterstisyel sahada, Leydig hücrelerinde hafif bir gerileme ile birlikte görülen hücresel gevşeme sonucu ortaya çıkan boşlukların da artan bağ doku tarafından doldurulduğu gözlemlendi (Resim:13,15, 16, 17).

Tunica albuginea da yer alan bağ doku hücreleri, hücreler arası elemanlar ve kan damarlarında belirgin bir farklılığa rastlanmadı (Resim: 13, 16).

b/ Elektron Mikroskopisi ;

Günaşırı 0,0005 mg/kg 'lık dozlar halinde etinil östradiol verilen deneklerin biyopsi materyalleri elektron mikroskopunda incelendiğinde; tubulus seminiferus contortus bazaline oturan Sertoli hücrelerinin sitoplazma yoğunluklarında değişikliklerin ve hatta vakuollerin ortaya çıktığı, hücre organellerinde bazı aşırı gelişmelerin ve dejenerasyonların meydana geldiği görüldü(Resim:18, 19, 20, 21, 22).

Germ hücrelerinin gelişimi esnasında ortaya çıkan spermatosit-I ve spermatosit-II sayısında azalma, onların bölünmesiyle oluşan spermatidlerde ise mitokondrilerin hidrate olup şişkinleştiği, dejenerasyona yönelip, içlerinde elektron yoğun materyal biriktirdiği görüldü. Özellikle bu tür spermatidleri destekleyen Sertoli hücre sitoplazmasında da yer yer sitoplazmik silinmeler ve içerisinde farklı yoğunlukta maddeler içeren vakuoller gözlemlendi (Resim:18, 19, 20, 21, 22). Bu Sertoli hücrelerinde rastlanan bir diğer özellik de düz endoplazmik retikuluma ait vezikül sayısının çok artmış ve lizozomların ortaya çıkmış olmasıydı (Resim: 20).

İlerlemiş dönem spermatidlerin sitoplazmalarında ise, akrozom oluşturmuş Golgi

kompleksi, sisternalarında madde birikmiş düz endoplazmik retikulum ve dejenerasyona uğramış mitokondriler görüldü. Yine bu ilerlemiş dönem spermatidlerini destekleyen Sertoli hücrelerinin, desteklediği hücreye yakın sitoplazmasında diğer sitoplazmik kısımlarına oranla farklılık gösteriyordu: buralarda sitoplazma yoğunluğunun azalmasıyla ortaya çıkmış homojen vakuollere ve içlerinde biriken farklı yoğunlukta materyal bulunduran vakuollere, düz endoplazmik retikulum veziküllerinin artışına ve ayrıca içlerinde maddesi az veya çok sindirilmiş, farklı büyüklük ve şekilde lizozomlara çok sayıda rastlanıyordu (Resim: 21, 22).

Spermatosit-I, spermatosit-II ve spermatid sayısındaki azalmaya bağlı olarak olgunlaşma yolundaki spermium sayısında da azalma görüldü (Resim:21, 22).

Tubulus seminiferus contortuslar arasındaki interstisyel sahada yer alan Leydig hücrelerinde, büyük bir gerileme gözleniyordu. Hücrenin aktivitesini sağlayan hücre organellerindeki dejenerasyon, hücre esas fonksiyonunun hemen hemen kalmadığını gösteriyordu.

C) Günlük 0,0005 mg/kg Etinil Östradiol Verilmiş Grup Hayvanlarının Bulguları ;
a/ Işık Mikroskopisi ;

Günlük 0,0005 mg/kg etinil östradiol verdiğimiz deneklerden aldığımız biyopsi materyallerini ışık mikroskobunda incelediğimizde; günün etinil östradiol verdiğimiz deneklerin kesitlerine oranla büyük farklılıklara rastladık. Özellikle kesitlerde yeralan tubulus seminiferus contortus lümenlerinin hiçbirinde olgun spermium görülüyordu. Ayrıca tübül çapları birbirinden farklı olduğu gibi düzgün oval şeklini kaybederek, kontrol

grubuna oranla çok daha küçük ve düzensizleşmiş idi (Resim: 23, 24). Bunun yanısıra tübülün germ hücre tabaka sayısında da büyük bir azalma gözleniyordu (Resim:25, 26, 27, 28).

Tubulus seminiferus contortus tabanı üzerine oturan Sertoli hücrelerinin piramidal veya oval olan şekillerinin bozularak, nükleuslarının da armut veya üçgen şekillerini kaybettiği; nükleusta yer alan nükleolusta silikleşme; hücrelerin perinükleolar sahalarında ise sitoplazma yoğunluğunun çok azalarak, buralarda çok sayıda büyük vakuolün ortaya çıktığı görülmekte idi (Resim : 25, 26, 27, 28).

Tübül tabanına yerleşmiş spermatogoniumların tümü açık renk nükleuslu spermatogoniumlar olup, koyu renk nükleuslu spermatogoniumlara rastlanmadı (Resim : 25, 26, 27, 28).

Tubulus seminiferus contortus epitelinde spermatogoniumların mitoz bölünmeleri ile meydana gelen spermatosit-I'ler bulunmasına rağmen, verdiğimiz etinil östradiolün fazla olmasından dolayı spermatosit-II, spermatid ve spermiumlara rastlanmadı (Resim : 25, 26, 27, 28) ve tubulus seminiferus contortus lümeninde çok sayıda germ hücre döküntülerine rastlandı (Resim: 25, 26). Bu gruba ait parçaların hiçbirinde tubulus seminiferus contortuslarda spermatogenezin bütünüyle gerçekleşmediği izlendi (Resim : 23, 24, 25, 26, 27, 28).

Tubulus seminiferus contortus bazal membranlarında yeralan bağ doku karakterli hücrelerin aktivitelerini çok arttırarak, gerek kollagen liflerde artış, gerekse bazal membran kalınlaşmasına neden olduğu görüldü (Resim : 25, 26, 27, 28).

İnterstisyel sahada yer alan Leydig hücrelerinde görülen şekil bozuklukları ve gerileme sonucu, hücre kordonlarındaki gevşeme ile ortaya çıkan intersellüler boşlukların artan bağ doku tarafından doldurulduğu göze çarpmaktaydı (Resim : 25, 26, 27, 28).

Kollagen lif artışı, dolayısıyla tunica albugineada kalınlaşma, ancak tübül çaplarının küçülmesinden dolayı testiste de atrofi ortaya çıktığından, tunica albugineada yer yer içeriye doğru çökmeler, bir takım içe yönelik kıvrılmalar görüldü (Resim : 23, 24).

b/ Elektron Mikroskopisi ;

Günlük 0,0005 mg/kg 'lık dozlar halinde etinil östradiol verdiğimiz deneklerin biyopsi materyallerinden elde ettiğimiz kesitleri elektron mikroskobunda incelediğimizde; gün aşırı etinil östradiol alan deneklerin kesitlerine oranla birçok farklılıklarla karşılaştık. Tubulus seminiferus contortus tabanında yer alan Sertoli hücrelerinin sitoplazma ve hücre organellerinde izlenen farklılaşmaların yanısıra, tübül duvarı boyunca yerleşmiş germ hücrelerinde de gerek türlerinde gerekse organellerinde bazı gerileme ve dejenerasyonların ortaya çıktığını gördük (Resim:29, 30, 31, 32, 33, 34). Bazal membranda yer alan elemanlarda ise bir kontraksiyon ve buna bağlı bir kalınlaşma söz konusu idi (Resim:29, 30, 33, 34).

Germ hücrelerini destekleyen Sertoli hücrelerinde; nükleus şekillerinde bozulma, sitoplazma yoğunluğunda azalma ve bunun sonucu sitoplazmik vakuol sayısında artış, mitokondrilerde dejenerasyon, düz endoplazmik retikulumun hemen hemen sadece veziküler yapılar halinde yer alması, lizozom sayısında ve büyüklüğünde artış en önemli farklılıklardı (Resim: 29, 30, 31, 32, 33, 34).

Spermatogenezin kök hücresi olan koyu renk nükleuslu spermatogoniumlar tübül duvarından yok olmuş; tüm spermatogoniumları sadece açık renk nükleuslu spermatogoniumlar oluşturuyordu (Resim:29, 30, 31, 32, 33,34). Sitoplazmalarındaki mitokondriler çoğunlukla periferde yerleşmiş ve hidrate olmuş, içerlerinde yoğun, elektron opak bir madde bulunduruyorlardı (Resim:29, 30, 31, 33, 34). Düz endoplazmik retikulum çoğunlukla veziküller şeklinde, yer yer tübüler karakter gösteriyordu; bu tübüller ise bazen içerlerinde bulunan materyalden dolayı şişkinleşmiş görüyorlardı. Kontrol grubuna oranla lizozom sayısında artma ve büyüme gözleniyordu (Resim: 29,30,31).

Spermatosit-I sayısında büyük ölçüde azalma vardı. Bunlar daha çok Sertoli hücresinin lümenine yakın kısmında (Resim:29) ve Sertoli hücresi ile bağlantısını kaybetmiş, lümenine atılmış sitoplazmik parçacıklar şeklinde idi (Resim:32).

Germ hücre sayısının ve Sertoli hücrelerinin gerilemelerinden dolayı gerek spermatogoniumların, gerekse spermatosit-I'lerin çevrelerinde çok sayıda vakuollerin ve intersellüler boşlukların ortaya çıktığı görüldü (Resim:29, 30, 31, 33).

Tubulus seminiferus contortus epitel tabakasında spermatogonium ve spermatosit-I'lere rastlamamıza rağmen, spermatogenezin daha ileri safhalarını oluşturan spermatosit-II, spermatid ve spermium gibi olgun hücrelere hiç rastlayamadık.

Tübül lümeninde dejenerasyona uğrayarak parçalanmış spermatosit-I'lerin çok sayıda sitoplazmik parçacıklarına (Resim:32) ve dejenerasyon yolunda spermatosit-I'lere rastladık (Resim:29).

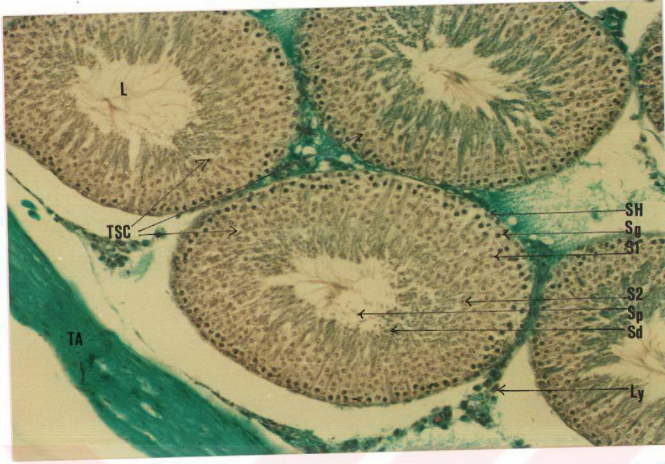
İnterstisyel sahada yer alan Leydig hücrelerinin dejenerasyona uğrayarak, atrofiye

olduğunu, sitoplazmasının periferinde parçalanmaların ortaya çıktığını ve bu parçacıklardan bir kısmının koparak interstisyel bölgelerde yer aldığını gördük. Sitoplazmasında yer yer büyük yağ vakuolleri bulundurmakta olup, düz endoplazmik retikulumu oldukça gerilemiş idi (Resim: 35).

Tubulus seminiferus contortus bazal membranında yer alan miyoid hücrelerde küçülme ve kontraksiyon gözlenmekte; bu hücelere paralellik gösteren elastik ve kollagen liflerde ise bazı kıvrılma ve spiralleşmeler izlenmekte idi (Resim : 29,30,33).

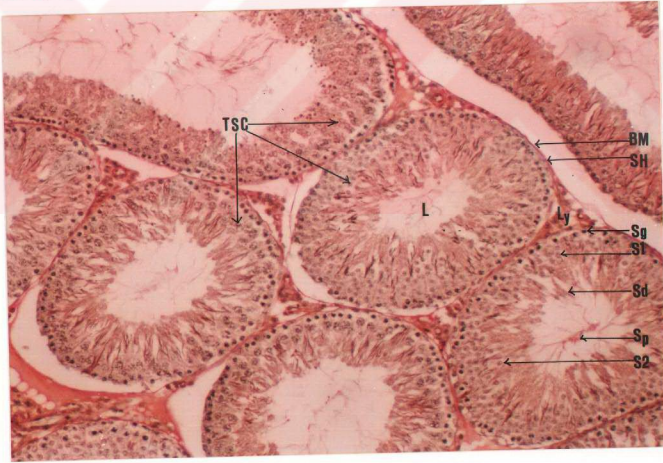


İŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK FOTOĞRAFLAR :



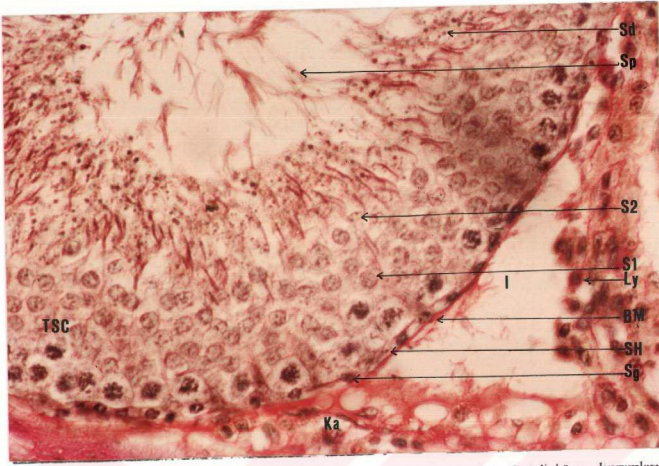
Resim 1: Kontrol grubu testis kesidinde, tubulus seminiferus contortus çaplarının birbirine yakın olduğu, germ hücrelerinin (tübül lümenine doğru, spermatogoniumdan spermiuma ilerleyen biçimde sıralandığı, bazal membranın hemen üzerinde Sertoli hücrelerinin yerleştiği, Leydig hücrelerinin ise interstisyel sahada yer aldığı görülmektedir. Tüm organ oldukça kalın bağ dokudan yapılmış tunica albuginea ile sarılıdır.

Tubulus Seminiferus Contortus(TSC), Spermatogonium(Sg), Spermatosit-I(S1), Spermatosit-II(S2), Spermatid(Sd), Spermium (Sp), Sertoli Hücresi(SH), Leydig Hücresi(Ly), Lümen(L), Tunica Albuginea(TA).
Masson, x100

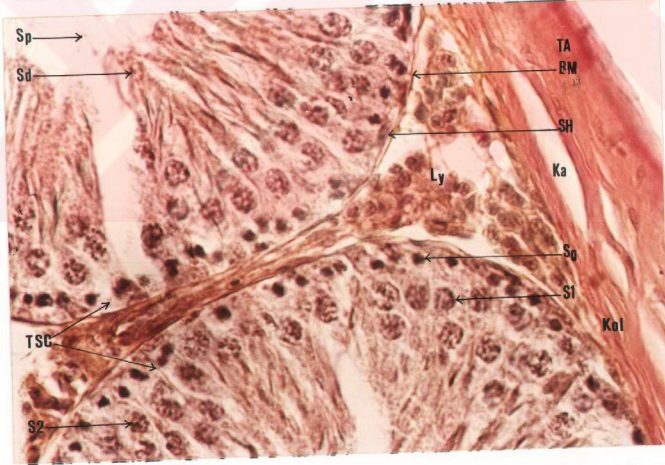


Resim 2: Bir başka kesitte tubulus seminiferus contortus bazal membranına oturmış Sertoli hücreleri ve spermatogoniumlar, lümenine doğru sırayla spermatosit-I, spermatosit-II, spermatidler ile lümende spermiumlar ve interstisyel sahada Leydig hücreleri izlenmektedir.

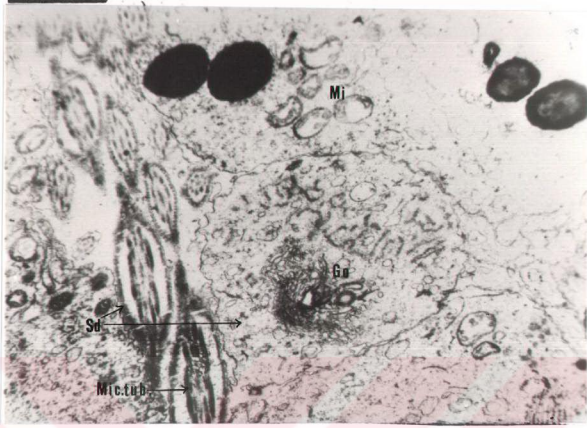
Tubulus Seminiferus Contortus(TSC), Bazal Membran(BM), Sertoli Hücresi(SH), Lümen(L), Spermatogonium(Sg), Spermatosit-I (S1), Spermatosit-II(S2), Spermatid(Sd), Spermium(Sp), Leydig Hücresi(Ly).
PAS + H + Von Gieson, x 100



Resim 3: Tübül bazal membranında oturmuş Sertoli hücreleri ve spermatogoniumlar. Sertoli hücre kıvrımlarına yerleşmiş spermatozoid-I, spermatozoid-II ve spermadidler ile lümeninde spermiumlar izlenebilir. İnterstisyel sahada ince bazal membrana sahip kapillerler ile ilişkide, grup veya kordon halinde Leydig hücreleri göze çarpmaktadır.
 Tubulus Seminiferus Contortus(TSC), Bazal Membran(BM), Sertoli Hücreleri(SH), Spermatogonium(Sg), Spermatozoid-I(S1), Spermatozoid-II(S2), Spermadid(Sd), Spermium(Sp), Leydig Hücreleri(Ly), Kapiller(Ka).
 PAS+H + Von Gieson , x 400

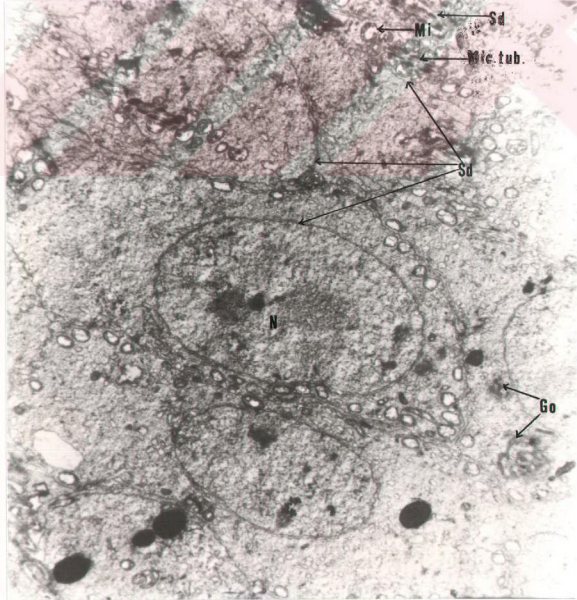


Resim 4: Damardan ve özellikle kollagen liflerden zengin tunica albuginea ile sarılı testiste ,tubulus seminiferus contortus bazal membrana oturmuş Sertoli hücreleri ile spermatogoniumlar , spermatozoid-I, spermatozoid-II, spermadidler ve spermiumlar ile interstisyel sahada kapiler çevresinde gruplaşmış Leydig hücreleri görülmektedir.
 Tunica Albuginea(TA), Tubulus Seminiferus Contortus(TSC), Bazal Membran(BM), Kapiler (Ka), Sertoli Hücreleri(SH), Spermatogonium(Sg), Spermatozoid-I(S1), Spermatozoid-II(S2), Spermadidler(Sd), Spermium(Sp), Leydig Hücreleri(Ly), Kollagen Lif(Koll).
 H + Von Gieson , x 200



Resim 7: Çeşitli evrelerdeki spermatid sitoplazmalarından geçen kesitte, bir spermatidde Golgi kompleksinin akrozoma dönüşmesi, ilerlemiş dönem spermatidinin kuyruk bölgesinden geçen kesitte ise mitokondrisiz mikrotubul yerleşimi izlenmektedir. Spermatid (Sd), Golgi Kompleksi (Go), Mitokondri (Mi), Mikrotubul (Mic.tub.).

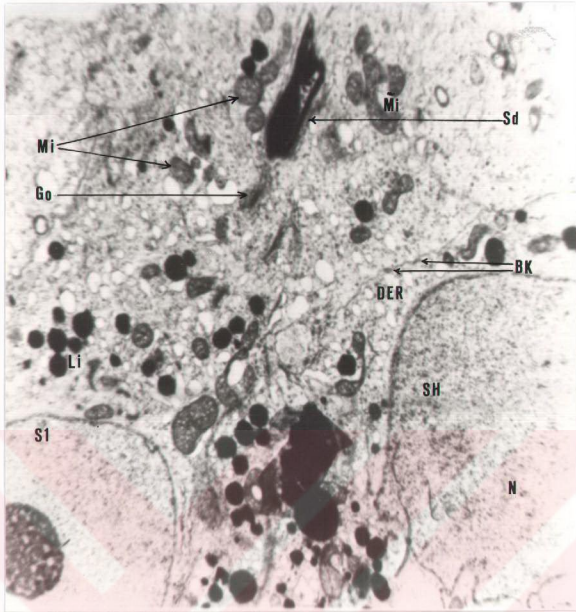
Kurşun Sitrat-Uranil Asetat, x 9000



Resim 8: Histogenesis geçirmekte olan spermatidler farklı mitokondri yerleşimleri ve akrozom oluşumları ile görülmektedir; ileri dönem spermatidlerinde mitokondrilerin mikrotubuller çevresinde boynun bölgesine yerleştiği, kuyruk bölgesinde ise mitokondrisiz mikrotubullerin yer aldığı, bazı spermatidlerde ise mitokondrilerin sitoplazmada yeni yeni toplandığı görülmektedir.

Spermatid (Sd), Mitokondri (Mi), Mikrotubul (Mic.tub.), Golgi Kompleksi (Go), Nükleus (N).

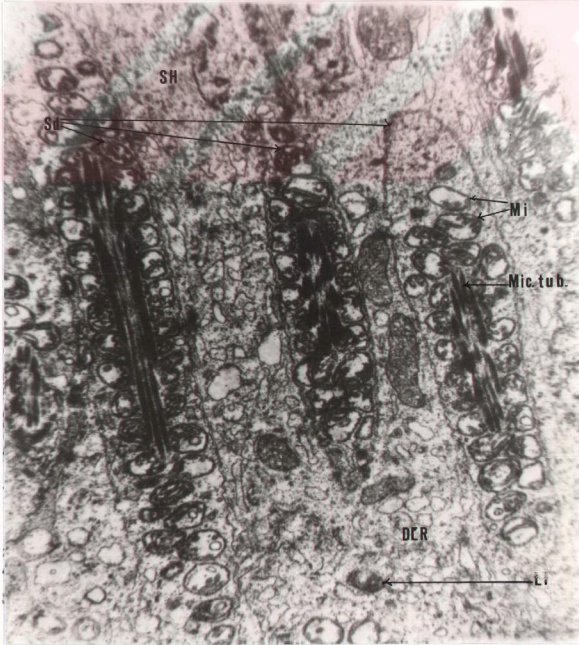
Kurşun Sitrat-Uranil Asetat, x 4500



Resim 9: Birbirine bağlantı kompleksleriyle ilişkili görülen her iki komşu Sertoli hücrelerinde de, düz endoplazmik retikulum ve Golgi aygıtının iyi geliştiği, çok sayıda mitokondri ve lizozomlara sahip oldukları görülmektedir.

Bağlantı Kompleksleri (BK), Sertoli Hücreleri (SH), Düz Endoplazmik Retikulum (DER), Spermatosit-I (S1), Spermatid (Sd), Mitokondri (Mi), Lizozom (Li), Nükleus (N), Golgi Aygıtı (Go).

Kurşun Sırat - Uranil Asetat , x 4500

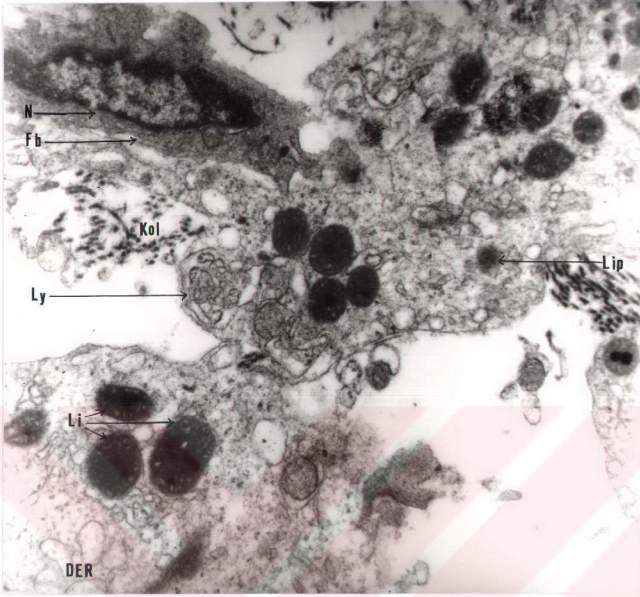


Resim 10: İlerlemiş dönemdeki spermatidlerin boyun bölgesinden geçen kesitte mitokondri ve mikrotubul yerleşimleri, kuyruk bölgesinden geçen kesitte ise mitokondri-siz mikrotubul yerleşimlerine rastlanmaktadır.

Bu spermatidlerin apikal ve lateral sitoplazmik kıvrımlarına yerleştiği Sertoli hücrelerinde ise düz endoplazmik retikulum, çok sayıda mitokondri ve lizozomlar gözlenmektedir.

Spermatid (Sd), Mitokondri (Mi), Mikrotubul (Mic.tub.), Sertoli Hücreleri (SH), Düz Endoplazmik Retikulum (DER), Lizozom (Li).

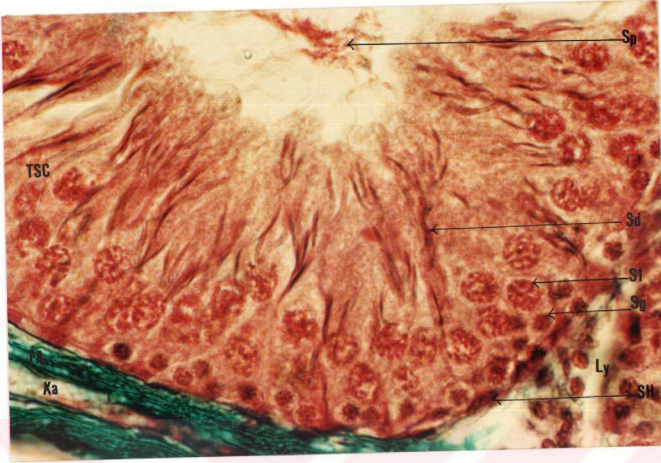
Kurşun Sırat - Uranil Asetat , x 9000



Resim 11 Tübüller arası interstisyel sahada yer alan Leydig hücrelerinin sitoplazmalarının düz endoplazmik retikulumdan, çeşitli evrelerdeki lizozomlardan ve lipid damlacıklarından çok zengin olduğu görüldü. Ayrıca hücreler arasında fibroblast ve kollagen liflere rastlandı. Leydig Hücresi(Ly), Düz Endoplazmik Retikulum (DER), Lizozom(Li), Lipid Damlacıkları(Lip), Fibroblast(Fb), Kollagen Lif (Kol), Nükleus(N), Kurşun Sitrata - Uranil Asetat, x 9000



Resim 12: Günüşarı 0,0005 mg/kg etinil östradiol alan gruba ait bu kesitte, tubulus seminiferus contortus çaplarının birbirine yakın olduğu ve tübüldeki germ hücre tabaka sayısında azalma olduğu, dolayısıyla lümendeki spermium sayısının da azaldığı görülmektedir. Tubulus Seminiferus Contortus (TSC), Lümen (L). Masson, x100



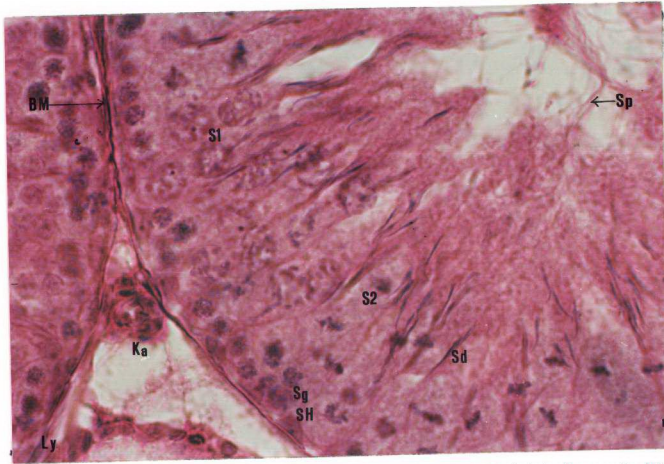
Resim 13: Germ hücre tabaka sayısındaki azalmanın yanı sıra koyu renk nükleuslu spermatogonimlarda izlenen azalmaya rağmen, açık renk nükleuslu spermatogonim sayısında herhangi bir değişiklik olmamış. Leydig hücre kordoxlarında gevşeme ile birlikte lifsel bağ doku artışı izlenmektedir.

Tubulus Seminiferus Contortus(TSC), Tunica Albuginea(TA), Kan Damarı(Ka), Sertoli Hücresi(SH), Leydig Hücresi(Ly), Spermatogonium(Sg), Spermatosit-I(S1), Spermatid(Sd), Spermium(Sp).
Masson, x 400



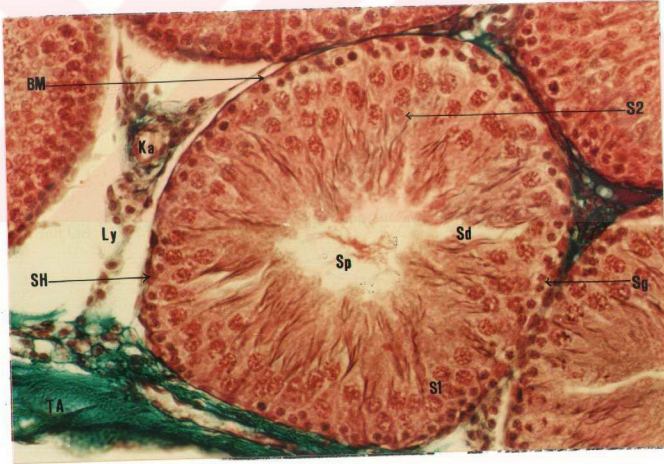
Resim 14: Kontrol grubuna oranla kalınlaşmış bazal membranlar üzerine oturan Sertoli hücrelerinin perinöklear bölgelerinde sitoplazma yoğunluğunun azaldığı hatta yer yer vakuoller oluşturduğu, koyu renk nükleuslu spermatogonim sayısının ve spermatogenez evresi geçiren açık renk nükleuslu spermatogonim ve spermatosit-II'ler dışındaki germ hücrelerinin sayılarında azalma görüldü.

Bazal Membran(BM), Sertoli Hücresi(SH), Spermatogonium(Sg), Spermatosit-I(S1), Spermatosit-II(S2), Spermatid(Sd).
PAS+H+ Von Gieson, x 400



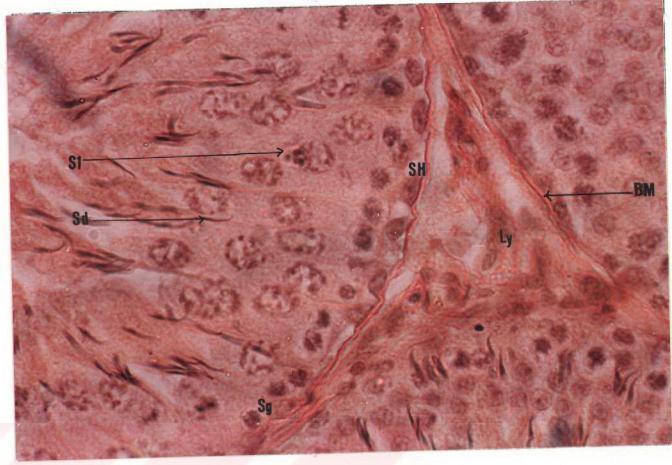
Resim 15: Bazal membran üzerine yerleşmiş Sertoli hücrelerinin perinükleer sitoplazma bölgelerinde sitoplazma yoğunluğunun azaldığı, açık renk nükleuslu spermatogoniumların koyu renklilere oranla çoğunlukta olduğu, spermatosit-I sayısında değişiklik gözlenmesine rağmen, spermatosit-II ve spermatidlerde azalma olduğu, ancak yine de lümeninde olgun spermium bulunduğu, bağ doku elemanlarında hücresel aktivite artışının olduğu görülmektedir.

Bazal Membran(BM), Sertoli Hücresi(S1), Spermatogonium(Sg), Spermatosit-I(S1), Spermatosit-II(S2), Spermatid(Sd), Spermium(Sp), Leydig Hücresi (Ly), Kapiler(Ka).
H+E, x 400

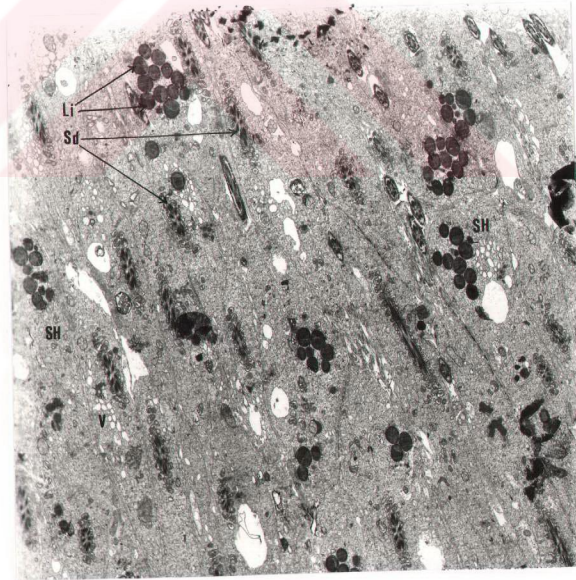


Resim 16: Tübül duvarının bazalinde yırtılan Sertoli hücrelerinin perinükleer sitoplazmalarındaki vakuolleşmeler, koyu renk nükleuslu spermatogonium azalması, ortaya çıkan spermatosit-I sayısına karşın spermatosit-IIlerin azlığı ve bunun sonucu spermatid ve spermium düşüşü, interstisyel sahadaki Leydig hücrelerinde gerileme ve onun yerini alan artmış bağ doku gözlenmektedir.

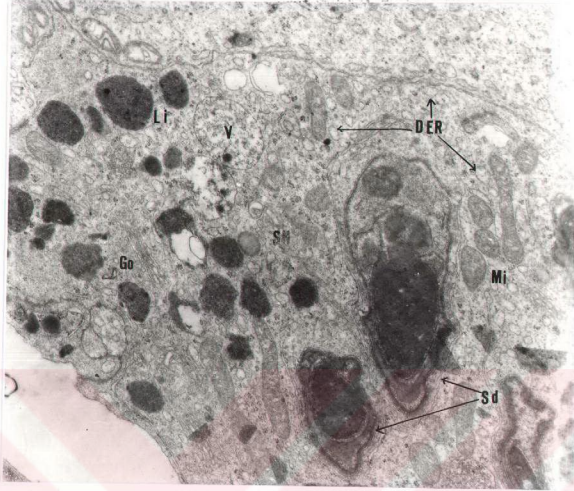
Tunica Albuginea(TA), Bazal Membran(BM), Sertoli Hücresi(SH), Spermatogonium (Sg), Spermatosit-I(S1), Spermatosit-II(S2), Spermatid(Sd), Spermium(Sp), Leydig Hücresi(Ly), Kapiler(Ka).
Masson , x 200



Resim 17: Özellikle Sertoli hücrelerinin perinükleer bölgelerinde sitoplazma yoğunluğunun azalarak, yer yer boşlukların ortaya çıkışının çok belirgin olduğu, Leydig hücre kordonlarında gevşeme ve onun yerini alan bağ doku artışı rahatlıkla izlenmektedir. Spermatogonium(Sg), Sertoli Hücresi(SH), Bazal Membran(BM), Spermatosit-I(S1), Spermatid(Sd), Leydig Hücresi(Ly). H+Von Gieson, x 400



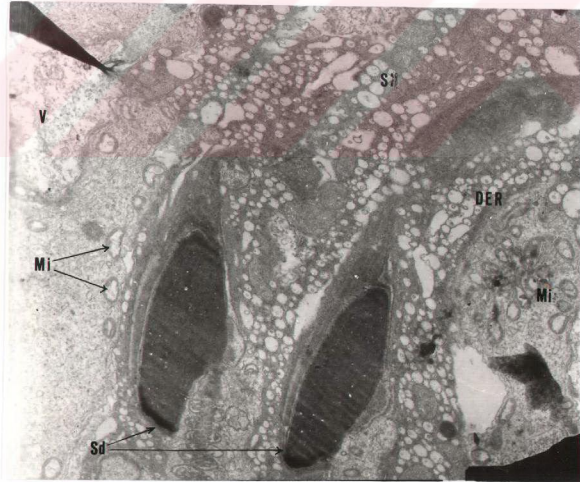
Resim 18:Günası 0.0005 mg/kg etmil östradiol alan deneklerin biyopsi materyallerinden elde edilen elektron mikrograflarında; tübülün lümenine yakın bölgelerindeki spermatidlerin boyun ve kuyruk parçalarından geçen kesitler ve girintilerine yerleştikleri Sertoli hücre sitoplazmaları görülmektedir. Bu sitoplazmalarda vakuolizasyon, düz endoplazmik retikulumunda vezikül artışı ve lizozom artışı izlenmektedir. Spermatid(Sd), Sertoli Hücresi (SH), Vakuol (V), Lizozom(Li). Kurşun Sitrata-Uranil Asetat, x 1900.



Resim 21: İlerlemiş dönem spermatid sitoplazmasında; nükleüs ve ötünde ycr alan akrozoma, dejenerasyona uğramış mitokondrilere; spermatide destek olan Sertoli hücrelerinde ise iğlerinde elektron yoğun materyal bulunduran büyük vakuollere, düz endoplazmik retikuluma ve oldukça büyük çapta, çok sayıda lizozoma rastlanmaktadır.

Spermatid (Sd), Sertoli Hücresi (SH), Vakuol (V), Golgi Aygıtı (Go), Mitokondri (Mi), Düz Endoplazmik Retikulum (DER), Lizozom (Li).

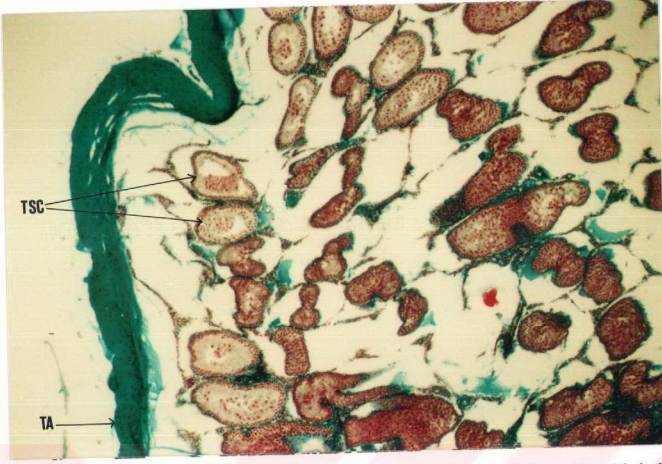
Kurşun Sitrat -Uranyl Asetat, x 9000.



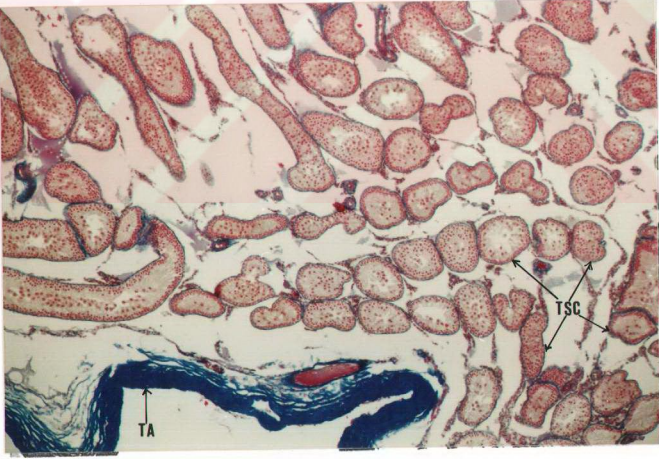
Resim 22 : Sertoli hücrelerinin desteklediği olgunlaşma yolundaki spermium sayısında azalmanın yanı sıra, Sertoli hücresi sitoplazmasında vakuolizasyon artışı, mitokondri dejenerasyonu ve düz endoplazmik retikuluma vezikül sayısının artışı ve bu veziküllerde madde birikimi de görülmektedir.

Spermatid (Sd), Sertoli Hücresi (SH), Vakuol (V), Mitokondri (Mi), Düz Endoplazmik Retikulum (DER).

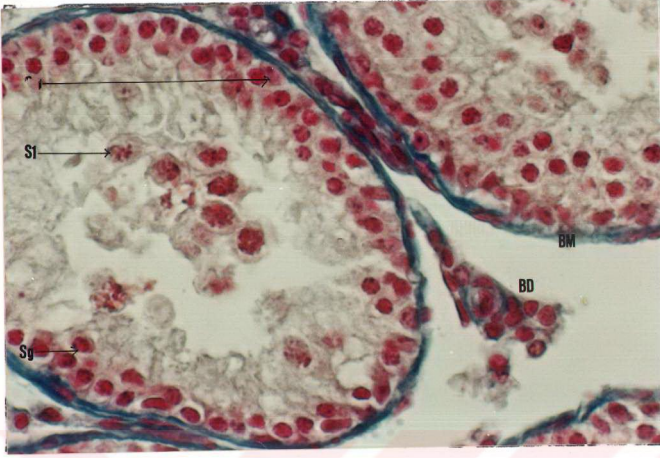
Kurşun Sitrat -Uranyl Asetat, x 4500.



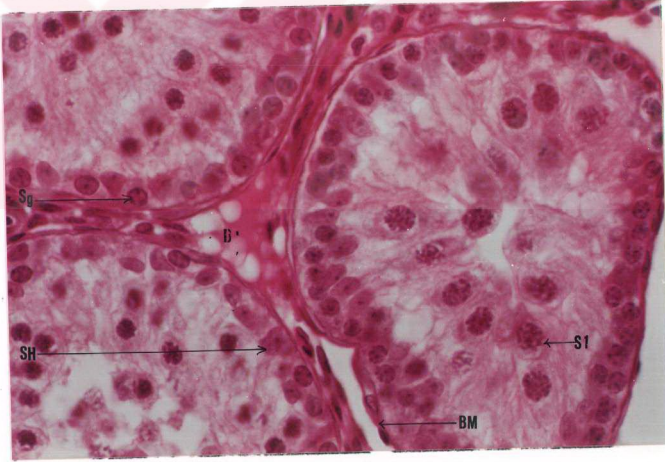
Resim 23: Günlük 0,0005 mg/kg etinil östradiol verilmiş grup hayvanların biyopsi materyallerinden elde ettiğimiz kesitlerin ışık mikroskopu fotoğraflarında; tubulus seminiferus contortus çaplarının birbirinden farklı olduğu, kontrol grubuna oranla küçülüp, düzensizleştiğini gördük. Ayrıca tübüllerde spermatogenezin gerçekleşmediği, tunica albugineanın ise kollagen lif artışıyla kalınlaştığı, aynı zamanda içeriye doğru yer yer çökelerek, kıvrılmalar yaptığı görülmektedir.
Tubulus Seminiferus Contortus(TSC), Tunica Albuginea(TA)
Masson, x 40



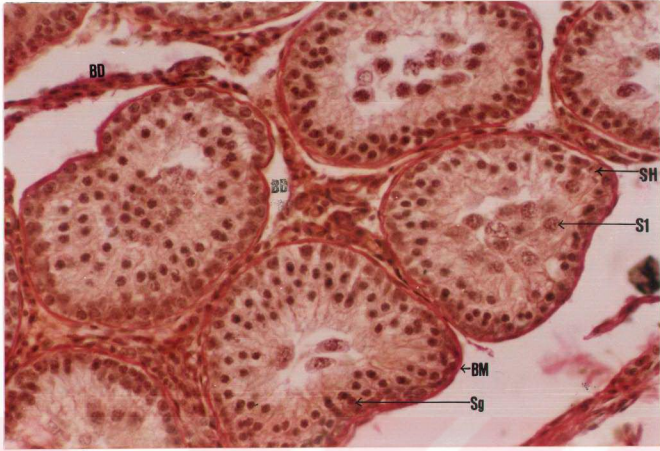
Resim 24: Bu gruba ait kesitlerde tübül çaplarındaki farklılıklar, tübüllerin kontrol grubuna oranla daha küçük ve düzensiz olduğu; duvarlarında spermatosit-II, spermatid ve spermiuma rastlanmaması; tunica albugineadaki kalınlık ve kapsülün içeriye doğru yer yer yığılması görülmektedir.
Tubulus Seminiferus Contortus(TSC), Tunica Albuginea(TA)
Azan, x 40



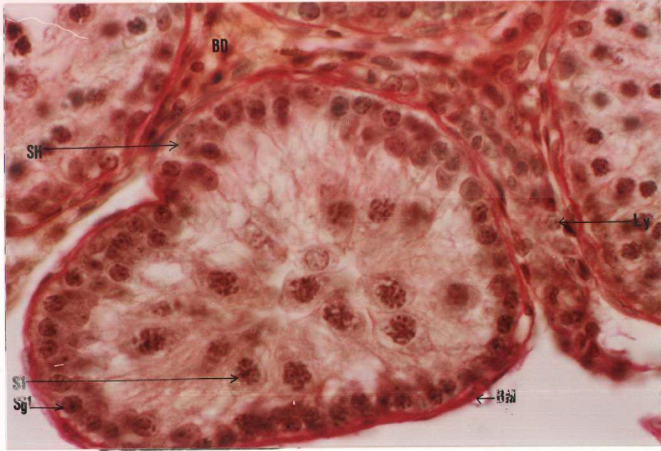
Resim 25: Tübül bazal membranının kalınlaşması, üzerinde yer alan Sertoli hücrelerinin şekil, nükleus ve nükleolus farklılaşmaları, perinükleolar sitoplazmasındaki yoğunluğun azalması vakuollerin ortaya çıktığı görülüyor. Tabanda görülen spermatogoniumların tümünün açık renk nükleuslu olup, koyu renk nükleuslu spermatogoniuma rastlanmaması ilgi çekiyor. İnterstisyel sahada yer alan Leydig hücrelerinde meydana gelen gerilme sonucu ortaya çıkan boşlukların ise bağ doku hücreleri tarafından doldurulduğu görülüyor.
Spermatosit-1(S1), Spermatogonium(Sg), Sertoli Hücresi(SH), Bağ Doku(BD), Bazal Membran(BM).
Azan, x 400



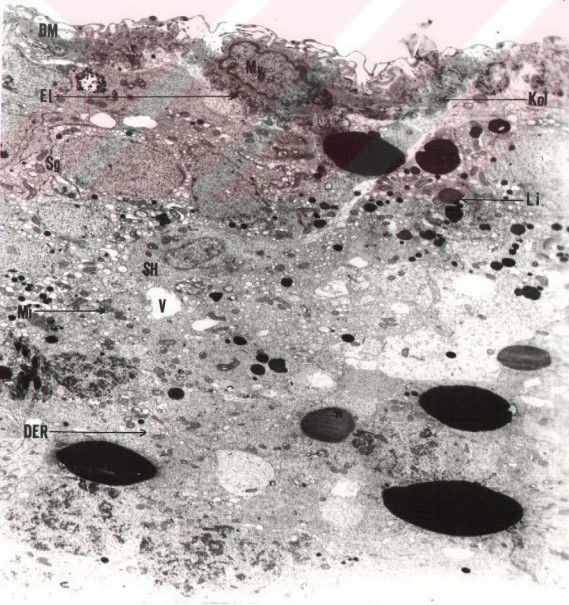
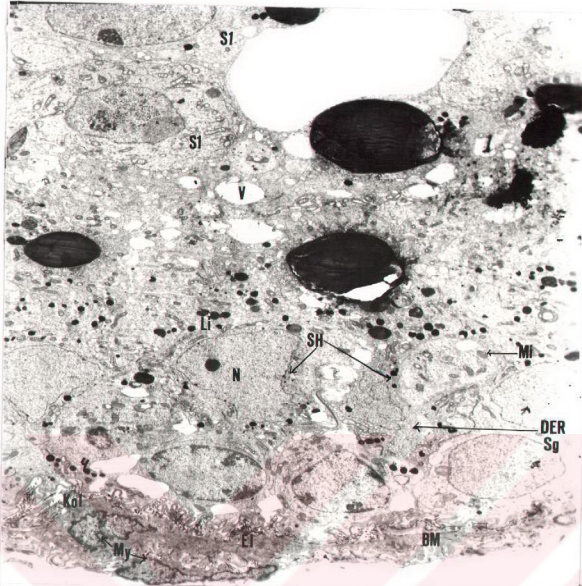
Resim 26: Bu resimde de tübüllerin bazal membranlarında kalınlaşma, bazal membrana oturan Sertoli hücrelerinde farklılaşmalar, spermatogoniumların tümünün açık renk nükleuslu olması, spermatogenez serinin yalnızca spermatosit-1'e kadar olan safhasının izlenmesi, interstisyel sahadaki bağ doku artışı dikkat çekicidir.
Spermatosit-1(S1), Spermatogonium(Sg), Sertoli Hücresi(SH), Bağ Doku(BD), Bazal Membran (BM).
H+E, x 400



Resim 27: Tübüllerin bazal membranlarında bağ doku hücre aktivite artışına bağlı kalmış; Sertoli hücrelerinin şekil, nükleus, nükleolus ve sitoplazmalarındaki farklılaşmalar ayrıca tübülün germinal epitelinde sadece açık renk nükleusa sahip spermatogonyumların ve spermatosit-Ilerin izlenmesi ve interstisyel sahada Leydig hücreleri yerine bağ doku artışı etimil östradiol etkisini göstermektedir. Spermatosit-I(S1), Spermatogonium(Sg), Sertoli Hücresi(SH), Bağ Doku(BD), Bazal Membran(BM). PAS +H + Von Gieson, x 200



Resim 28: Günlük 0,0005 mg/kg etimil östradiol verilmiş gruba ait ışık mikroskopik fotoğrafla tübülün, bazal membran ve Sertoli hücrelerindeki farklılaşmalar, açık renk nükleuslu spermatogonyumlar, spermatosit-Iler görülmektedir. Interstisyel sahada ise Leydig hücrelerinde ortaya çıkan gerileme ve bu arada ortaya çıkan boşluklara yerleşmiş bağ doku gözlenmektedir. Spermatosit-I(S1), Spermatogonium(Sg), Sertoli Hücresi(SH), Bağ Doku(BD), Bazal Membran (BM). PAS +H+ Von Gieson, x 400



Resim 29: Günlük 0,0005 mg/kg etinil östradiol verilmiş grup hayvanlarından alınan biyopsi materyallerinden elde edilen elektron mikroskopik fotoğrafı; tubulus seminiferus contortus bazal membranında yer alan miyoid hücrelerin kontraksiyonu, buna paralellik gösteren elastik ve kollagen liflerde baza kıvrılma ve spiralleşmelerin olduğu gözleniyor. Bazal membrana oturmuş açık renkli spermatogoniumların periferde yerleşmiş mitokondrilerinin çoğunlukla hidrate olduğu, veziküller veya tübüler yapıda olan düz endoplazmik retikulumunun azaldığı, lizozom sayısı ve büyüklüğünde ise artışın ortaya çıktığı; germinal hücrelere destek veren Sertoli hücrelerinde ise sitoplazma kaybı ve buna bağlı sitoplazmik vakuollerin ortaya çıktığı, düz endoplazmik retikulum gerilmesi, mitokondri dejenerasyonu ve lizozom sayısında artış olduğu, ayrıca hücreler arasında ilişkinin azalarak intersellüler boşlukların ortaya çıktığı görülmüyor.

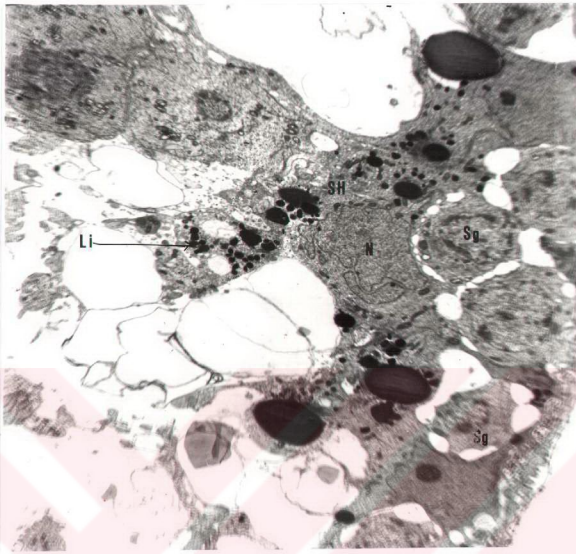
Spermatogonium (Sg), Sertoli Hücresi (SH), Vakuol (V), Mitokondri (Mi), Düz Endoplazmik Retikulum (DER), Bazal Membran (BM), Miyoid Hücre (My), Lizozom (Li), Kollagen Lif (Kol), Elastik Lif (EI), Nükleus (N), Spermatozoid (S1).

Kurşun Sitrata - Uranil Asetat, x 9000.

Resim 30: Bu fotoğrafta; tübül bazal membranında yer alan miyoid hücrelerin kontraksiyonu, elastik ve kollagen liflerde kısılma ve spiralleşmeler, ayrıca tübül tabanına yakın izlenen açık renkli spermatogoniumlarda mitokondrilerin hücre zarına paralel olarak yerleştiği, hücre sitoplazmasının içinde çok sayıda sitoplazmik boşlukların ortaya çıktığı görülmüyor. Sertoli hücre sitoplazmasında ise vakuolizasyon, düz endoplazmik retikulumda gerilme, lizozom sayısında artış ile birlikte mitokondrilerinin çoğunda dejenerasyona rastlanmaktadır.

Spermatogonium (Sg), Sertoli Hücresi (SH), Vakuol (V), Mitokondri (Mi), Düz Endoplazmik Retikulum (DER), Lizozom (Li), Bazal Membran (BM), Miyoid Hücre (My), Kollagen Lif (Kol), Elastik Lif (EI).

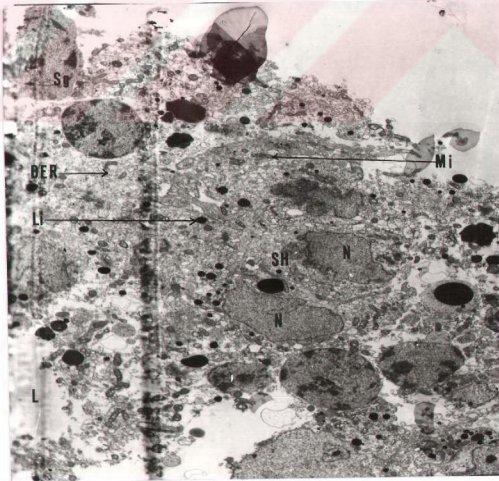
Kurşun Sitrata - Uranil Asetat, x 4500.



Resim 31: Spermatogonium ve Sertoli hücre sitoplazmalarında ortaya çıkmış çok sayıda vakuoller, hücrelerin birbirleriyle olan ilişkilerini kaybetmesi sonucu görülen intersellüler boşluklar, hücre organellerinde giderek artan dejenerasyon görülmektedir.

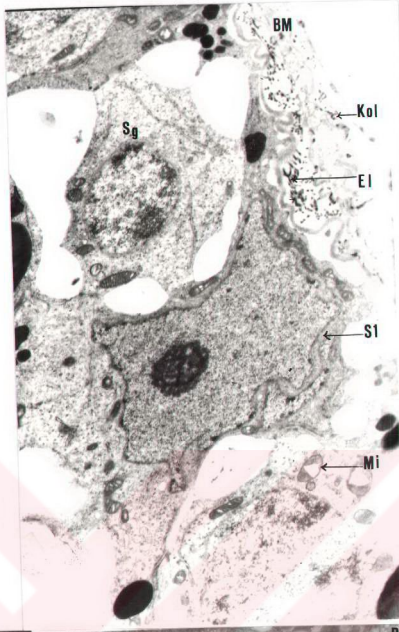
Spermatogonium(Sg), Sertoli Hücre(SH), Lizozom (Li), Nükleus (N)

Kurşun Sitrata - Uranil Asetat, x 4500.



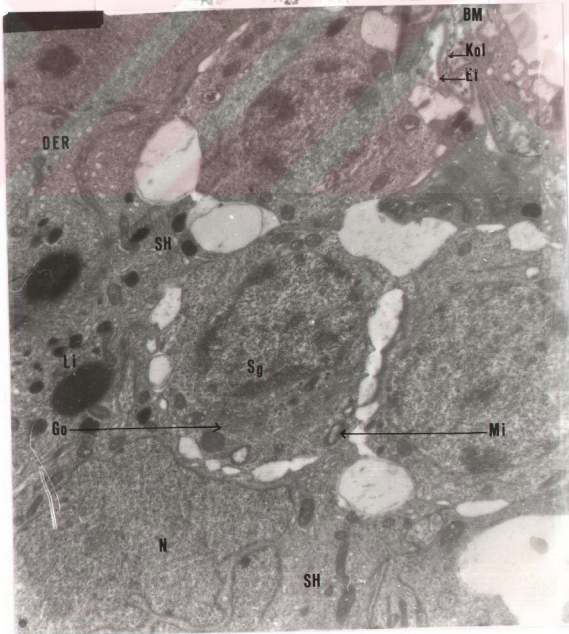
Resim 32: Ağır dozda etinil östradiol alan gruba ait deneklerin biyopsi materyallerinden elde edilen fotoğrafta; gerek Sertoli gerekse germ hücrelerinin dejenerasyon olarak sitoplazmalarının parçalandığı ve sitoplazmik parçacıkların lümeninde yığıldığı görülmektedir. Sertoli hücrenin nükleus şeklinde bozulma, sitoplazmasında vakuol ve lizozom artışı, düz endoplazmik retikulumunda gerileme ve mitokondrilerinde dejenerasyon gözlenmektedir.

Spermatogonium(Sg), Sertoli Hücre (SH), Mitokondri (Mi), Düz Endoplazmik Retikulum (DER), Lizozom (Li), Nükleus(N), Lümen(L).
Kurşun Sitrata-Uranil Asetat, 4500.



Resim 33 : Bazal membranda yer alan kollagen ve elastik liflerde bazı kasılma ve kıvrımlarla birlikte, germ hücrelerinde ortaya çıkan haraplanmalar izlenmektedir. Spermatogonium ve spermatosit-lerin çevresinde ise vakuollerin ve intersellüler boşlukların ortaya çıktığı, ayrıca spermatosit-lerde mitokondrilerin nükleus çevresinde yerleştiği görülmektedir.

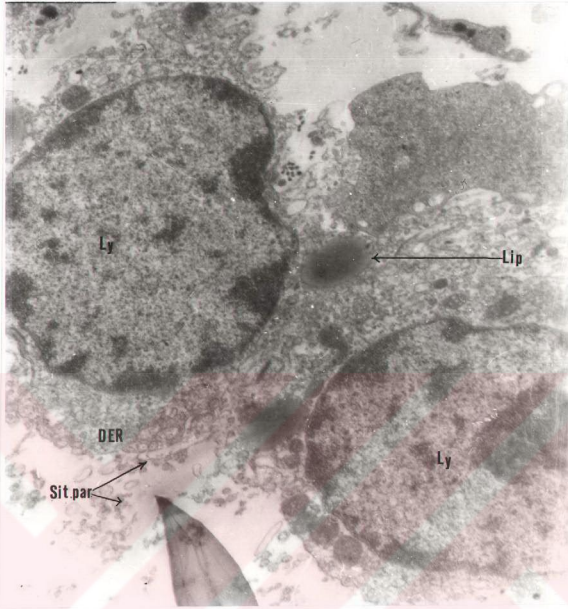
Spermatogonium (Sg), Spermatosit-I (S1), Mitokondri (Mi), Bazal Membran (BM), Kollagen Lif (Kol), Elastik Lif (Ei).
Kurşun Sitrata-Uranil Asetat, x 4500.



Resim 34: Elektron mikroskopik fotoğrafta; germ hücrelerinin özelliklerini kaybederek dejenerasyona uğradıkları, Sertoli hücre sitoplazmasının mitokondrilerinde dejenerasyon, lizozom ve vakuol sayısında artış, düz endoplazmik retikulumda gerileme, ayrıca spermatogonium ve Sertoli hücreleri arasında intersellüler boşlukların ortaya çıktığı gözlenmektedir.

Spermatogonium (Sg), Sertoli Hücresi (SH), Nükleus (N), Mitokondri (Mi), Düz Endoplazmik Retikulum (DER), Golgi Aygıtı (Go), Lizozom (Li), Bazal Membran (BM), Kollagen Lif (Kol), Elastik Lif (Ei).

Kurşun Sitrata-Uranil Asetat, x 4500.



Resim 35: Etinil östradiol etkisiyle sayıları azalan Leydig hücrelerinde; Leydig hücrelerinin özellikle periferinde sitoplazmalarının parçalanıp, koparak atıldığı, sitoplazmada yağ vakuollerinin bulunduğu, düz endoplazmik retikulumun gerilediği, sitoplazmada yer yer silinmelerin ortaya çıktığı gözlenmektedir.

Leydig Hücresi(Ly), Lipid Damlası (Lip), Düz Endoplazmik Retikulum (DER), Sitoplazma parçacıkları(Sit par.), Kurşun Sitrat - Uranyl Asetat, x 9000.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Östrojenler; dişilerde, testosteron ise erkeklerde, sekonder seks karakterlerinin oluşumunu ve devamını, üreme organlarının büyüme ve gelişimini, ayrıca üreme siklusunun düzenini sağlayan hormonlardır. Erkeklerle uygulandıklarında; testosteron hormonuna karşıt etki göstererek, gonadotropinler ve fertilité üzerine olumsuz etki meydana getirirler (4, 12, 18, 33, 46).

Bruce ve Anastassiadis'e göre, östrojenler; hayvanın türüne, cinsiyetine, genital siklusuna ve incelenen dokunun türüne göre farklı etki yaparlar(7). Chinoy ve arkadaşları ise; östrojenlerin çok genç sıçanlar ile ergin sıçanlar üzerine yaptığı etkinin farklı olduğunu, nedeninin ise; çok gençlerde henüz cinsiyet hormonlarının aktivite kazanmamış olması, erginlerde ise sürekli yapılan spermatozoidlerin, östrojenlerin anti etkilerinden dolayı, çoğalıp, olgunlaşmalarının sınırlanmış olmasından olduğunu ileri sürmüşlerdir (8). Östrojen etkisi ayrıca doza ve süreye de bağlıdır (28, 29).

Erkek sıçanlara östrojen verildiğinde; gerek testosteron ve LH hormon düzeylerinde(11, 47, 51, 53, 56), gerekse androjenlere hedef olan erkek genital organların ağırlıklarında ileri derecede azalma görülmüştür (24,34,35,46,47,51,53,56). Ancak Kalla, bu görüşte olmayıp; östrojenlerin, sadece testiste azalmaya neden olduğunu, fakat vücudun diğer kısımlarının östrojenden etkilenmediğini iddia etmektedir (28).

Hunt ve arkadaşları; östrojen verilen erkek sıçanlarda, genital kanallara açılan

bezlerde atrofi, LH ve testosteron düzeylerinde azalmanın görüldüğünü, fekdasyon işlemi için az sayıda spermatozoid olmasına karşın, sterilitenin ortaya çıkmadığını ileri sürmüşlerdir (25).

Kalra ve Prasad 1969 yılında yaptıkları çalışmada; uzun süre östrojen tedavisinden sonra, hipofizden FSH ve LH salınımının inhibisyonuyla spermatogenesisin birçok tübülde erken spermatid evresinde, birkaç tübülde ise primer spermatosit evresinde kaldığını; ayrıca tübüllerde Tip-A spermatogonium, spermatosit ve erken spermatid sayısında önemli miktarda azalma görüldüğünü saptamışlardır. Bunun yanı sıra tübül bazal membranında kıvrılmalar, interstisyel sahada yer alan Leydig hücrelerinde atrofi ve sayılarında azalmanın ortaya çıktığını gözlemişler, erkek genital yollar üzerinde ortaya çıkan bu değişikliklerin kalıcı olmayıp, östrojen kesilmesiyle ortadan kalkacağı görüşünü ileri sürmüşlerdir (29).

Schulze; 22-48 yaşları arasında, uzun süre östrojen tedavisi uygulanması sonucu transseksüalitenin görüldüğü hastalar üzerinde yaptığı çalışmasında; Sertoli, Leydig ve spermatogonial kök hücrelerinin morfolojilerini incelemiş, çalışmalarının sonucunda, seminifer tübül epitelinin yalnızca açık renk nükleuslu Tip-A spermatogoniumlarından ve Sertoli hücrelerinden oluştuğunu söylemiş ve ayrıca östrojen dozunun arttıkça, normal Leydig hücre sayısında azalmanın ortaya çıktığını, bu azalmanın nedeninin ise olgun Leydig hücrelerinin mezenkimal kök hücrelerine geri dönüş yaparak, fibro ve miyofibroblastlara dönüşmesinden dolayı olabileceği fikrini ortaya atmıştır (49).

Bruce ve Anastasiadis'in erkek ve dişi kümes hayvanlarına östrojen vererek,

sekonder hedef organlarındaki lipid ve kollagen içeriklerin miktarlarını saptadıkları çalışmada, incelenen hedef organların kollagen içeriğinde azalma görülmesi dikkat çekicidir (7).

Abney ve Myers; östrojen veriminden sonra, total interstisyel hücrelerin ve Leydig hücrelerinin sayılarını saptayarak, Leydig hücre gelişimi üzerine östrojenin inhibitör etkisi olduğunu göstermişlerdir (1).

Jones ve arkadaşları; östrojenin, testosteron sentezi için önemli olan 3β -hidroksisteroid dehidrogenaz, 17β -hidroksisteroid dehidrogenaz ve fosfodiesteraz gibi enzim aktivitelerini etkileyerek testosteron oluşumunu engellediğini ileri sürmüşlerdir (26). Bazı araştırmacılara göre; Leydig hücresinde östrojen reseptörleri de yer aldığından (38), bu reseptörler üzerinden etkiyen östrojenin hücreden testosteron salgılanmasında değişiklik yapabileceğini ve bundan dolayı da tubulus seminiferus contortuslarda germ hücre yapımının ve farklılaşmasının spermatogenezisi olumsuz yönde etkileyeceğini düşünmüşlerdir (27, 28, 30, 43).

Masumbuko, De Mayer ve Freund; östradiolün, spermatogoniumlar üzerindeki klastojenik etkisinden dolayı kromozomların parçalandığını, bu yüzden de diğer germ hücrelerinin ortaya çıkamadığını ileri sürmüşlerdir (35).

Araştırmamızda etinil östradiol etkisinin, testis dokusunu oluşturan; tunica albuginea, tübül bazal membranı, interstisyel dokuyu oluşturan tüm hücreler, Sertoli hücreleri ve germ hücreleri üzerine olduğunu gördük.

Günaşırı etinil östradiol alan deneklerimizin tunica albuginealarında çok belirgin

bir farklılığa rastlamamamıza rağmen; günlük etinil östradiol verdiğimiz grupların tunica albuginealarında izlediğimiz kalınlaşma ve yer yer görülen çökmeler testisin atrofiye olarak küçülmesinden kaynaklanmış olabileceği izlenimi verdi. Atrofi öncesi testisin etrafındaki kapsül, başlangıca oranla küçülmüş olan testis çevresinde, miyoid hücrelerin de kontraksiyonuyla boyunu kısaltmış, içe doğru çöküp, kıvrımlar yaparak, kalın bir görünüm almış, ancak bu kalınlık madde artışıyla ilgili bir kalınlık olmayıp, sadece görüntü olarak o kanyı veren, gerçekte kapsülün önceki kantitesinden farklı miktarda olmayan materyal miktarına sahip olduğu kanısına vardık. Bu düşüncemizin temelini ise " Bruce ve Anastasiadis'in, kollagen metabolizma miktarını saptama çalışmalarında, kollagen içeriğinin artmayıp, bilakis azaldığı görüşü " oluşturuyordu. Buna göre tunica albugineada kıvrımların görülmesi, kollagen lif artışından değil, testisin atrofiye olarak küçülmesinden kaynaklanmış olabilirdi .

Tübül bazal membranında izlenen kalınlaşma ise; östrojen veriminden sonra, interstisyel sahada bulunan Leydig hücreleri gerileyerek, fibro ve miyofibroblastlara dönüşmüş olabileceğinden, Leydig hücre sayısındaki azalma da testosteron miktarını düşüreceğinden, germ hücre sayısında da azalma ortaya çıkar. Ayrıca bazal membranda yer alan miyoid hücreler kontraksiyona uğrayarak, tübül bazal membranında çökmeler meydana getirebilir; bu ise bazal membranın kalın görünmesine neden olabilir.

İnterstisyel sahada bulunan Leydig hücreleri, birçok araştırmacının da çalışmalarında belirttiği gibi, gerileyerek (1, 29, 49), bağ doku hücrelerine dönüşmüşlerdir. Leydig hücrelerinde izlenen bu farklılaşma sonucu, testosteron miktarında önemli derecede düşüş

ortaya çıkmıştır (25,28).

Günaşırı etinil östradiol alan grup deneklerimizin Leydig hücrelerinin bir kısmı, östrojen etkisini ortadan kaldırmak amacıyla aktif hale geçmiş, bir kısmı ise hafif bir gerileme göstermiştir. Ancak günlük östrojen alan deneklerimizde dozun artması nedeniyle, Leydig hücreleri yaptıkları aşırı çaba sonucu aktivasyonlarını kaybederek, gerilemişlerdir. Hücrelerde ortaya çıkan atrofi sonucu; hücre organelleri giderek pasif hale geçmiş ve dezorganizasyona uğramıştır; hücre sitoplazmasının sentral kısmında ortaya çıkan boşalmalar ve periferinde parçalanmalar görülmesi ve bu parçaların interstiyel bölgede yer alması, testosteron düzeyinde ortaya çıkan azalmadan dolayıdır.

Kandaki testosteron seviyesinin azalması; tubulus seminiferus contortus duvarını oluşturan Sertoli hücrelerini ve onların desteği ile çoğalıp, olgunlaşabilen germ hücrelerini de etkileyerek gerilemelerine neden olmuştur.

Günaşırı etinil östradiol alan gruba nazaran, günlük etinil östradiol alan grupta, Sertoli hücrelerinde giderek artan gerileme; kandaki östrojen konsantrasyonunun yükselmesi, desteklediği germ hücrelerinde ortaya çıkan bozuklukları giderebilmek amacıyla Sertoli hücrelerinin destek görevini arttırması ve bu artışı sağlayan hücre organellerinin aşırı çalışarak yıpranmasından kaynaklanmış olabileceğini düşündük: bu aktivite artışı, gerek organellerde gerekse matriks yoğunluğunda kayba yol açacağından, sitoplazmada yer yer yoğunluk azalmasına ve vakuollerin oluşmasına neden olabilir. Östrojenin dozuna bağlı olarak ortaya çıkan gerek artık maddelerin, gerekse haraplanan organellerin birikmesiyle; bu maddeleri ortadan kaldırmak amacıyla hücrede lizozom sayısının artmış olabileceğini düşündük. Bu

lizozomlar; bazı yapıları sindirmiş, bazılarını kısmen eritmiş olabileceğinden, lizozomlarda elektron yoğun maddeye veya myelinoid figürlere rastlanıyordu. Sertoli hücrelerinde nükleus çevresinde boşlukların ortaya çıkması ise hücrenin bu bozuklukları gideremeyerek yorulduğunu, sonuçta nükleus-sitoplazma ilişkisinin bozulduğunu gösteriyordu. Bu ilişkinin bozulması da nükleolus ve nükleus dejenerasyonu ile son bulur.

Günaşırı etinil östradiol alan grupta; Sertoli hücrelerinin aktivite arttırmasıyla ortaya çıkan düz endoplazmik retikulum veziküllerindeki artışın, östrojen reseptörleri bulunduran (40) ve giderek gerileyen germ hücrelerini destekleyen Sertoli hücrelerinin detoksifikasyon mekanizmasının işleve başlamasından dolayı olduğunu; ancak östrojen dozunun artmasıyla Sertoli hücrelerinde aktivitenin giderek azaldığını, buna bağlı olarak da düz endoplazmik retikulum veziküllerinde azalmanın ortaya çıktığını düşündük.

Günlük etinil östradiol alan grupta; Sertoli hücrelerinde gözlenen mitokondri dejenerasyonunun ise genelde şu nedenlerden kaynaklanmış olabileceğini düşündük:

a/ İlkel şekilleri hücre sitoplazmasında ortaya çıkan bazı proteinler, dış mitokondrial reseptörler tarafından alınarak mitokondriye geçerler ve son şekillerini orada alırlar. Hücre sitoplazmasında bu ilkel proteinleri yapacak organeller gerilediğinden, farklı maddeler ortaya çıkmış olabilir; dolayısıyla da reseptör tarafından kabul edilmemiş olabilirler. Bu nedenle mitokondrial fonksiyon gerçekleştirmekte rol alan bir çok enzim yapılamamış olabilir(10,52).

b/ Sitoplazmada bazı divalent katyonların ortaya çıkışı veya konsantrasyonlarının artması dolayısıyla, divalent katyonların denge düzenlenmesinde rol alan mitokondriler aşırı çalışarak yıpranmış olabilir (48).

c/Kromozomlar üzerinde östrojenin klastojenik etkisini ileri süren Masumbuko ve arkadaşlarının fikrinden hareket ederek (35); mitokondrial DNA'nın da hücre nükleusu gibi etkilenip dejenere olmuş olabileceğini ve yeni mitokondrilerin yapılamayacağından, diğerlerinin de fazla yıpranmış olabileceğini düşünebiliriz.

Östrojen dozuna bağlı olarak, Leydig hücre dejenerasyonundan dolayı, testosteron miktarında düşme ve Sertoli hücre haraplanmaları ortaya çıktığından; güneşir ve günlük etinil östradiol alan deneklerimizin germ hücrelerinin çoğalmasında ve gelişiminde bozukluklar meydana geldi.

Güneşir etinil östradiol alan deneklerimizde; koyu renk nükleuslu spermatogoniumlarda sayı düşüşüne rağmen, açık renk nükleuslu spermatogonium sayısının artışı ve günlük etinil östradiol alan grupta koyu renk nükleuslu spermatogoniumların tamamen ortadan kalkıp, yalnızca açık renk nükleuslu spermatogoniumların gözlenme nedeninin; spermatogenez serisini tamamlamak üzere, tüm koyu renk spermatogoniumların ileride spermatozitleri verecek, açık renk nükleuslu spermatogoniumlara dönüşmesinden olabileceğini düşündük.

Çeşitli evrelerdeki germ hücrelerinde izlenen mitokondrial bozukluklar da, Sertoli hücrelerinde görülen mitokondrial bozukluk nedenlerinden kaynaklanmış olabilir.

Veziküler veya tübüler karakterli düz endoplazmik retikulumları; aşırı detoksifikasyon fonksiyonu nedeniyle, içerdiği materyalden dolayı şişkinleşmiş idi. Ayrıca ortaya çıkan artık maddeleri yok etmek amacıyla, lizozom sayısında da artış görülüyordu.

Güneşir etinil östradiol alan grupta; açık renk nükleuslu spermatogonium ve

spermatosit-I sayısında önemli bir değişiklik olmamasına rağmen, spermatosit-II sayısındaki azalmanın; testosteron düzeyinin düşmesinden kaynaklanarak, spermatid ve spermium sayısında da azalma ortaya çıkarabileceğini düşündük. Ancak bu grupta spermium sayısındaki azalmaya rağmen spermatogenesisin devam ettiğini gördük.

Günlük etinil östradiol alan grubun tübül duvarında germinal seri hücrelerinden sadece açık renk nükleuslu spermatogonium ve spermatosit-I'lerle karşılaşmamızın; Leydig hücrelerinde haraplanma ve gerilemenin artmasıyla, testosteron miktarında daha da azalma olmasından kaynaklandığı düşüncesindeyiz.

Araştırmamızda elde ettiğimiz bulgular bize; erkeklerde östrojen alımını gerektiren durumlarda, östrojenin özellikle yüksek doz ve uzun süre kullanılmaması gerektiğini, ayrıca tedavi doz ve süresinin de büyük bir titizlikle düzenlenmesi gerektiğini gösterdi.

ÖZET

Östrojenler, anti hormonal etkileri nedeniyle, erkek genital organ kanser tedavilerinde kullanılır. Örneğin: prostat kanser tedavisinde, östrojenlerin antiandrojenik etkilerinden faydalandığı gibi. Ancak bu durum erkeklerde çoğunlukla feminizasyona yol açar.

Çalışmamızın amacı bu tür tedavide çok kullanılan etinil östradiolün testislerdeki germ hücreleri üzerine etkilerini ve nedenlerini araştırmaktır.

Bunun için, aynı biyolojik ve fizyolojik şartlar altında tuttuğumuz 200-250g ağırlığında, 3,5 aylık Wistar tipi erkek ratlardan kontrol grubu ve iki deney grubu oluşturduk. İki ay süre ile; 1.deney grubuna gūnaşırı, 2. deney grubuna ise her gün 0,0005 mg/kg etinil östradiolü intraperitoneal yoldan uyguladık.

2. ayın sonunda her üç gruptan da aldığımız materyalleri ışık ve elektron mikroskopik gözlemlerimiz için işlemlendirdik. Deney gruplarını kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda;

a/ 1.grup deneklerin testislerinde; germ hücre tabaka sayısında azalma, Sertoli hücre sitoplazmasında vakuolleşme, düz endoplazmik retikulum veziküllerinde artış, mitokondrilerde hidrasyon görüldü. Tübül bazal membranında kalınlaşma vardı.Germ hücrelerinde ise; koyu renk nükleuslu spermatogonium sayısında azalma, açık renk nükleuslu spermatogonium ve spermatisit-I sayısında önemli bir değişiklik izlenmezken;spermatisit-II,

spermatid ve spermium sayısında azalma, Leydig hücrelerinde de dejenerasyon gözledik.

b/ 2.grup deneklerin testislerinde; tübül çaplarında küçülme ve konturlarında düzensizlik gözledik. Tübül duvarlarında koyu renk nükleuslu spermatogoniumların tamamen kaybolup, sadece aydınlık renk nükleuslu spermatogonium ve spermatisit-I'lerin bulunduğunu, spermatisit-II, spermatid ve spermiumların olmadığını gördük. Sertoli hücre sitoplazma dejenerasyonunun da arttığını ve Leydig hücrelerinin geriye dönüş yapıp, gerileyerek, yerlerinin bağ doku tarafından doldurulmuş olduğunu gözledik.

Görülen ultrastrüktürel bozuklukların verdiğimiz etinil östradiol dozundan ortaya çıktığını, bu maddenin Leydig hücrelerinde haraplanma yaparak, testosteron düzeyinin düşüşüne neden olduğunu; ayrıca bu düşüşün hem germ hücrelerine destek olan Sertoli hücrelerini, hem de direkt olarak germ hücrelerini etkilediğini gözledik. Bu nedenle de tübül duvarında açık renk nükleuslu spermatogonium ve spermatisit-I'ler dışındaki germ hücrelerini izleyemedik.

SUMMARY

Estrogens, because of their antihormonal effects are extensively used in cancer therapy of male genital organs; having antiandrogenic effects, estrogens are used in the treatment of prostat cancer . However, this case mostly causes feminisation in the men.

In our study, our aim is to examine the effects and reasons of ethynyl estradiol on testis germ cells, which is commonly used in this kind of treatment.

For this study, we used 200-250gr, three and a half months old, male Wistar rats we kept under the same biological and physiological conditions. For two months we injected the first experiment group every two days and the second experiment group everyday 0.0005mg/kg ethynyl estradiol into intraperitoneal way.

At the end of the second month we processed testis biopsy materials we got from every three groups for light and electron microscopic observations. Compared testis biopsy materials of the treated rats to the controls groups testis biopsy materials:

a/In the testis of first group rats; a decrease in the number of germ cells layer, vacuoles in cytoplasm of Sertoli cells, an increase in the vesicles of smooth endoplasmic reticulum, hydration in mitochondria were observed. There was a thickening of tubule basement membrane. As for germ cells, there was a decrease in the number of dark spermatogonia but there wasn't an important change in the number of light spermatogonia and primary spermatocyte. There was a decrease in the number of secondary spermatocyte, spermatid and spermium. We observed a degeneration in Leydig cells.

b/ In the testis of the second group rats; we observed a shrink in diameter and irregularity in contour of tubules. We observed the absolute disappearance of dark spermatogonia, only the existence of light spermatogonia and primary spermatocyte and the disappearance of secondary spermatocyte, spermatid and spermium on the tubule epithelium. We observed an increasing degeneration of Sertoli cytoplasm, a ruin of Leydig cells. We also observed that Leydig cells replaced with connective tissue.

According to our findings, the dose of ethynyl estradiol caused ultrastructural defects, a degeneration in the Leydig cells, leading into the low of testosterone level in addition to this, it direct affected both Sertoli cells which supported germ cells and directly germ cells. For this reason, we couldn't see germ cells except light spermatogonium and primary spermatocyte on tubule epithelium.

KAYNAKLAR

- 1- **Abney T.O., Myers R.B. :** 17 β - Estradiol Inhibition of Leydig Cell Regeneration in the Ethane Dimethylsulfonate-Treated Mature Rat. *Journal of Andrology*. 12, 5, 295-304, Sept-Oct 1991.
- 2- **Bacon R.L, Kirkman H.:** The response of the Testis of Hamster to Chronic Treatment with Different Estrogens. *Endocrinology*. 57, 255-271, 1955.
- 3- **Bancroft J.D., Alan S.:** Theory and Practice of Histological Techniques. Third Edition, Churchill Livingstone Inc., New York 1990.
- 4- **Banlı O., Ünal A.:** Biyokimya Ders Notları. 2.Baskı, Metay Medikal Yayıncılık, Ankara 1989.
- 5- **Berne R.M., Levy M.N.:** Physiology. Third Edition, Mosby Year Book, Toronto, 1993.
- 6- **Bingöl G.:** Biyokimya. 4. Baskı, Taş Kitapçılık Ltd..Şti., Ankara, Şubat-1983.
- 7- **Bruce K.R, Anastassiadis P.A.:** Connective Tissue Constituents of the Fowl. Effects of Exogenous Estrogen. *Poultry Science*. 56:1073-1085, 1977.
- 8- **Chinoy M.R., Sharma J.D. and Chinoy N.J.:** Altered Structural and Functional Integrity of the Reproductive Tissues in Estradiol Benzoate-Treated Intact Male Albino Rats. *International Journal of Fertility*. 29(2), 98-103, 1984.
- 9- **Chiu A.W., Chen M.-T., Chiang H., Wu L.-H., Fang R.-H. and Chang L.S.:** Deoxyribonucleic Acid Histogram of Testes in Primary Transsexualism. *British Journal of Urology*. 72, 495-497, 1993.
- 10- **Dadoune J.P., Hadjiisky P., Siffroi J.P., Vendrely E.:** Histologie. Médecine-Sciences Flammarion, Paris, 1990.
- 11- **Dorrington J.H, Fritz I.B. and Armstrong D.T.:** Control of Testicular Estrogen Synthesis. *Biology of Reproduction*. 18, 55-64, 1978.
- 12- **Dökmeci İ.:** Farmakoloji İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar. 1.Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul-1992.

- 13- **Dörner G., Stahl F., Rohde W. and Schnoor D.:** An Apparently Direct Inhibitory Effect of Oestrogen on the Human Testis. *Endokrinologie.* 66, 221-224, 1975.
- 14- **Emmens C.W., Parkes A.S.:** Effects of Exogenous on the Male Mammal. *Vitamins and Hormones.* 5, 233-272, 1947.
- 15- **Erlaçin S.:** Temel İlkeleri İle Biyokimya. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir -1985.
- 16- **Ewing L.L., Desjardins C., Irby D.C., Robaire B.:** Synergistic Interaction of Testosterone and Oestradiol Inhibit Spermatogenesis in Rats. *Nature.* 269, 409-411, Sep- 1977.
- 17- **Ganong W.A. :** Ganong Tıbbi Fizyoloji. 16. Baskı, Barış Kitabevi, İstanbul-1995.
- 18- **Gilman A.G., Rall T.W., Nies A.S., Taylor P.:** The Pharmacological Basis of Therapeutics. II , Eighth Edition, Maxwell Macmillan, Singapur-1991.
- 19- **Glode L.M., Robinson J. and Gould S.F.:** Protection from Cyclophosphamide-Induced Testicular Damage with an Analogue of Gonadotrophin Releasing Hormone. *Lancet.* I, 1132-1134, 1981.
- 20- **Greenspan F.S.:** Basic and Clinical Endocrinology. Third Edition, Appleton and Lange, Connecticut, 1991.
- 21- **Gündüz M.:** Fizyopatoloji. 1., Marmara Kitapevi, Bursa, Mart- 1989.
- 22- **Hayat M.A.:** Principles and Techniques of Electron Microscopy. 1., Van Nostrand Reinhold Company , New York ,1970.
- 23- **Huggins C., Scott W.W., Hodges C.W.:** Studies on Prostatic Cancer. I. The Effects of Fever, of Deoxycorticosterone and of Estrogen on Clinical Patients with Metastatic Carcinoma of the Prostate. *J. Androl.* 46, 997-1006, 1941.
- 24- **Hunt D.M., Lau In Fai, Saksena S.K. and Chang M.C.:** Endocrinological and Physiological Features After Steroid Treatment of Male Rats. *Archives of Andrology.* 1, 311-320, Sep-1978.
- 25- **Hunt D. M., Saksena S.K., Chang M.C.:** Effects of Estradiol-17 β on Reproduction in Adult Male Rats. *Archives of Andrology.* 2, 129-133, 1979.
- 26- **Jones T.M., Fang V.S., Landau R.L. and Rosenfield R.:** Direct Inhibition of Leydig Cell Function by Estradiol. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 47, 1368-1373, 1978.

- 27- **Kalla N.R., Nisula B.C., Menard R and Loriaux D.L.:** The Effect of Estradiol on Testicular Testosterone Biosynthesis. *Endocrinology*. 106(1), 35-39, 1980.
- 28- **Kalla N.R.:** Demonstration of Direct Effect of Estrogen on Rat Spermatogenesis. *Acta Europaea Fertilitatis*. 18(4), 293-302, 1987.
- 29- **Kalra S.P., Prasad M.R.N.:** Recovery of Spermatogenic and Androgenic Activity in Adult Male Rats Following Long-Term Treatment With Estrogen. *Fertility and Sterility*. 20(3), 495-505, 1969.
- 30- **Kato J., Onouchi T., Okinaga S. and Ito N.:** Estradiol Receptor in Rat Testis. *Endocrinology*, 94(3), 902-907, 1974.
- 31- **Katzung B.G.:** Basic and Clinical Pharmacology. 6 Edition, Appleton and Lange, Lebanon, 1995.
- 32- **Kayaalp O.:** Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 1., 7.Baskı, Feryal Matbaacılık, Ankara, 1994.
- 33- **Kayaalp O.:** Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 3., 5.Baskı, Feryal Matbaacılık, Ankara, 1993.
- 34- **Limanowski A., Miskowiak B. and Otulakowski B.:** Effect of Estrogenization in the First Day of Life on the Reproductive System in Male Rats. *Histology Histopathology*. 9, 59-63, 1994.
- 35- **Masumbuko M.B., De Meyer R. and Freund M.:** Effect of Estradiol Treatment on Male Mice Synaptonemal Complexes: Difference of Sensitivity Between Neonates and Adults. *Genetica*. 87, 127-140, 1992.
- 36- **Matlin S.A.:** Prospects for Pharmacological Male Contraception. *Drugs*. 48(6), 851-863, Dec-1994.
- 37- **Morris J.D., Bardin C.W., Gunsalus G. and Ward J.A.:** Prolonged Suppression of Spermatogenesis by Oestrogen does not preserve the Seminiferous Epithelium in Procarbazine-Treated Rats. *International Journal of Andrology*. 13, 180-189, 1990.
- 38- **Mulder E., Brinkmann A.O., Lamers-Stahlhofen G.J.M. and Van der Molen H.J.:** Binding of Oestradiol by the Nuclear Fraction of Rat Testis Interstitial Tissue. *Febs Letters*. 31, 1, 131-136, April-1973.
- 39- **Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W.:** Harper'ın Biyokimyası. 22.Baskı, Barış Kitabevi, İstanbul, 1993.

- 40- **Nakhla A.M., Mather J.P., Janne O.A. and Bardin C.W.:** Estrogen and Androgen Receptors in Sertoli, Leydig, Myoid and Epithelial Cells; Effects of Time in Culture and Cell Density. *Endocrinology*. 115, 1, 121-128, 1984.
- 41- **Neumann F.:** Effects of Drugs and Chemicals on Spermatogenesis. *Arch.Toxicol.* 7, 109-117, 1984.
- 42- **Noyan A.:** Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 8.Baskı, Metaksan Anonim Şti., Ankara, Ocak-1993.
- 43- **Purvis K., Clausen O.P.F., Hansson V.:** Regulation of Leydig Cell Sensitivity and Responsiveness to LH/hCG. *International Journal of Andrology*. 2, 247-263, 1978.
- 44- **Rang H.P., Dale M.M., Ritter J.M.:** Pharmacology. Third Edition, Churchill Livingstone, Edinburgh, 1991.
- 45- **Rao M.V., Chinoy N.J.:** Effect of Estradiol Benzoate on Rat Testis and Adrenal. *Exp. Clin. Endocrinol.* 88, 2, 181-184, 1986.
- 46- **Rao M.V., Chinoy N.J.:** Structural Changes in Reproductive Organs of Male Rats After Estradiol Benzoate Treatment. *Exp. Clin. Endocrinol.* 84, 2, 211-217, 1984.
- 47- **Rao B.R., De Voogt H.J., Geldof A.A., Gooren L.J.G. and Bouman F.G.:** Merits and Considerations in the Use of Anti-Androgen. *J. Steroid Biochemistry*. 31, 4B, 731-737, 1988.
- 48- **Ross M.H., Romrell L.J., Kaye G.L.:** Histology. Third Edition, Williams and Wilkins, Baltimore, 1995.
- 49- **Schulze C.:** Response of the Human Testis to Long-Term Estrogen Treatment: Morphology of Sertoli Cells, Leydig Cells and Spermatogonial Stem Cells. *Cell and Tissue Research*. 251,31-43, 1988.
- 50- **Singh J.N., Setty B.S., Chowdhury S.R., Kar A.B.:** "Functional Sterility" in Male Rats After Micro-Dose Estrogen Treatment. *Contraception*. 1, 6, 373-387, June-1970.
- 51- **Steinberger E., Chowdhury M. and Tcholakian R.:** Effect of Estradiol Benzoate on the Pituitary- Gonadal Axis in the Intact Male Rat. *Andrologia*. 9(4): 307-312, 1977.
- 52- **Stevens A., Lowe J.S.:** Histologie. Edisem Pradel, Paris, 1992.
- 53- **Södersten Per:** Estrogen-Activated Sexual Behaviour in Male Rats. *Hormones and Behaviour*. 4, 247-256, 1973.

- 54- Thornberg J.V.:** On the Influence of Oestrogenic Hormones on the Male Accessory Genital System. *Acta Endocrinol.* 1, 1-214, 1948
- 55- Tüzün C.:** *Medikal Biyokimya.* Palme Yayınları, Ankara, 1992.
- 56- Verjans H.L., De Jong F.H., Cooke B.A., Van der Molen H.J. and Eik-Nes.K.B.:** Effect of Oestradiol Benzoate on Pituitary and Testis Function in the Normal Adult Male Rat. *Acta Endocrinologica.* 77, 636-642, 1974.
- 57- Yenson M. :** *İnsan Biyokimyası.* 6.Baskı, Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş., İstanbul, 1984.



ÖZGEÇMİŞ

1971 yılında Edirne'de doğdum. İlk, orta, lise eğitimimi Edirne'de tamamladım. 1987 yılında girdiğim Trakya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 1991 yılında mezun oldum. 1991-1993 yılları arasında Eczacıbaşı İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş. Bakteriyoloji Laboratuvarı Çevre Kontrol Bölümünde Analist Biyolog olarak görev yaptım. 1994 yılı bahar döneminde Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji programında yüksek lisans eğitimime başladım. 1994 yılı güz döneminden bu yana Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım.