

99810

t
156

T. C.
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ BİLİM DALI

Bilimsel Başkanı : Prof. Dr. KEMAL BAYRI

T. C.
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

DENEYSEL OLARAK ANTİBİYOTİKLERİN
SPERMATOGENEZİS ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
HİSTOPATOLOJİK İNCELENMESİ .

DOÇENTLİK TEZİ

Dr. NURAY ULUSU

ESKİŞEHİR - 1980

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ -----	1
GENEL BİLGİLER -----	3
- Erkek İnfertilitesi Nedenleri -----	3
- Erkek Germ Hücrelerinin Morfolojisi -----	5
- Spermiogenezis -----	5
- Fare Testisinin Histolojik Yapısı -----	8
GEREÇ ve YÖNTEM -----	11
BULGULAR -----	14
TARTIŞMA -----	25
SONUÇ -----	29
ÖZET -----	31
KAYNAKLAR -----	32

G İ R İ Ő

Erkek infertilitesinin önemli boyutlarda sosyal sorunlara neden olmasına karşın etiyoloji ve patogenezinde henüz tamamen aydınlığa kavuşmamış noktaların bulunması bu konuda yapılabilecek tüm araştırmaları önemli ve yerinde kılmaktadır.

İlaç olarak kullanılan bazı kimyasal maddelerin testis dokusu üzerinde olumsuz etkiler yaptığı bilinmektedir^{3,7,15}.

Prostat kanserlerinde kullanılan stilbesterolün¹⁵, malign lenfomaların tedavisinde kullanılan cyclophosphamide^{3,7} ve clorambusilin¹³ testis üzerinde harabiyet yaptığı Schwartz¹⁵, Barry - Fairley³ ve Richter¹³ tarafından bildirilmiştir.

Antibiyotiklerin de uzun süre ve yüksek dozlarda kullanıldıkları zaman çeşitli organlarda bazı yan etkileri olduğu bilinmekle beraber¹¹, antibiyotiklerin testis dokusu üzerindeki zararlı etkilerini konu alan çok az sayıda araştırma mevcuttur.

Dakov ve Timmerman², 1970 yılında bu konuda histokimyasal bir çalışma yapmışlar ve çeşitli antibiyotiklerin spermatogenezisin değişik evrelerini kısmen veya tamamen durdurduklarına dikkati çekmişlerdir.

Ranzoni¹² (1972) çeşitli antibiyotik ve kemoterapötiklerin spermato-

genezisi spermatid evresinde etkilediklerini ve seminifer tubuluslarda harabiyet meydana getirdiklerini göstermişlerdir. Kushniruk⁸ 1973 de streptomycin ve tetracyclin'in spermatogenezis üzerindeki etkilerini araştırmış ve tetracyclin'in spermatogoniumlarda mitotik aktiviteyi azalttığını bildirmiştir.

Yunda^{21,22,23}, 1973 ve 1975 yıllarında yapmış olduğu çalışmalarda antibiyotiklerin testisin endokrin fonksiyonlarına ve testis fonksiyonlarına etkisini incelemiş ve tedavi dozlarında endokrin fonksiyonlarda bir bozukluğun meydana gelmediğini fakat testis fonksiyonlarını azalttığını görmüştür. Timmerman¹⁷, 1977 de bir seri antibiyotikle histokimyasal çalışmalarını tekrarlamış ve antibiyotiklerin spermatogenezisi spermatosit I evresinde durdurduklarını tesbit etmiştir.

Kushniruk⁹, 1976 yılında çalışmalarına devam etmiş ve bazı antibakteriyel preparatların germinatif epitel hücrelerindeki nukleik asit miktarlarında meydana getirdikleri değişiklikleri araştırmıştır. Bu araştırması sonunda spermatogoniumlardaki DNA miktarında azalma olduğunu saptamıştır.

Antibiyotiklerin testis üzerindeki etkilerinin bu denli az araştırılmış olması nedeni ile, bu konuda çalışmayı uygun bulduk. Amacımız tedavi dozlarında ve kısa sürede daha önce denenmiş olan (Alphacillin grubu) Principen, Cefalosporon gurubundan olan Maksipor ve daha önce hiç denenmemiş olan Rifampisin gurubundan Rifocin'in spermatogenezis üzerindeki etkilerini incelemektir.

G E N E L B İ L G İ L E R

Erkek İnfertilitesi Nedenleri :

İnfertilite konusunda yapılan çalışmalarda yaklaşık olarak yüz evlilikten 15 inde aileler çocuk sahibi olamamaktadır^{18,19}. Kadın ve erkek üreme sistemlerinin yapılan tetkiklerinde % 50 bu sonuçtan erkek üreme sisteminin sorumlu olduğu görülmektedir. Erkek infertilitesinde çeşitli etyolojik faktörler rol oynamaktadır. Erkeğe ait infertilite nedenlerinin klinik bir sınıflandırılmasını yaparsak plazmadaki gonodotropin hormonların seviyesine bağlı olarak hipogonodotropin,hipergonododropin ve normal gonodotropin olarak 3 ana grupta inceleyebiliriz²⁰. Erkek infertilitesinin sınıflandırılması yapılırken morfolojik - anatomik sınıflandırmaya paralel olarak klinikobiyokimyasal sınıflandırma birlikte kullanılmaktadır²⁰. Bu esasa göre erkek infertilitesi :

Pretestiküler sebepler, testiküler sebepler ve posttestiküler sebepler olarak sınıflandırılır^{1,20}.

Araştırmamız testisteki değişiklikleri göstermeye yönelik olduğundan burada sadece testise ait nedenleri ilgilendiren konularda hatırlatma yapılacaktır.

Testise ait infertilite nedenleri testisteki primer bozukluklara bağlı olarak gelişir¹.

- 1- Matürasyon arresti (durması),
- 2- Hipospermatogenezis,
- 3- Germ hücrelerinin olmayışı (Sertoly cell only sendrom),
- 4- Klinéfelter sendromu,
- 5- Diğer seks kromozom anomalileri ve seks farklılaşmasında bozukluklar,
- 6- Cryptorchism,
- 7- Radyasyon harabiyeti,
- 8- Mumps orchitis.

Şikago Üniversitesinde 20 yıllı kapsayan bir süre içerisinde testis biyopsilerinin değerlendirmesi suretiyle yapılan bir araştırmada total infertilite vakalarının % 75 inin testisteki primer bozukluğa bağlı olduğu görülmüştür²⁰. Diğer bir seride matürasyon arresti gösteren vakaların % 45 olduğu yani matürasyon arrestinin diğer bütün nedenlerden daha yüksek yüzdeye sahip olduğu görülmektedir ve yine aynı seride matürasyon arresti ile hipospermatogenezis total olgu sayısının % 55 ini oluşturmaktadır. Matürasyon arresti ve hipospermatogenezise bazı kimyasal ve fiziksel maddelerin neden olduğu bilinmektedir. Bunlar arasında çeşitli toksik endüstriyel artıkları, insektisitler ve tedavi amacıyla kullanılan ilaçlar bilinmektedir. Örneğin Clorambusil, Cylophosphamide, Stilbestrol.

Isı germinal hücrelere önemli derecede zarar verir. Uzun süren ateşli hastalıkları takiben geçici ve devamlı sterilite meydana gelebilir.

Kısa süreli ateşlenmelerden sonra da normal erkeklerde sperm sayısında azalma saptanmaktadır. İşlerinin özelliği nedeniyle fazla sıcak yerlerde çalışan işçilerde matürasyon arresti veya hipospermatogenezise bağlı sterilite vakaları görülmektedir. Bunların yanısıra henüz sebebi açıklığa kavuşmamış olan matürasyon arresti ve hipospermatogenezisin nedeni ile sterilite gösteren vakalar mevcuttur²⁰. Matürasyon arresti spermatogenezisin bazı evrelerinde görülmektedir. Spermatogenezis spermatozoid I hücrelerinin ortaya çıkması ile aniden durur²⁰. Yer yer seyrek olarak spermatozoid II, spermatit ve spermatozoalar bulunur. Matürasyon arrestinde sertoli hücrelerinde seminifer tübülülerin tunika proprialarında leydiğ hücrelerinde bir değişiklik görülmez. Tubulusların çapları ekseriya normaldir. Matürasyon arrestinde spermatogenezisde diğer bir duraklama spermatid safhasında ortaya çıkar.

Erkek Germ Hücresinin Morfolojisi :

Spermium adı verilen erkek germ hücresi 1677 yılında Johann Ham tarafından ilk defa görülmüştür. İnsanda iplik şeklinde 50-70 mikron büyüklüğünde; baş, orta parça ve kuyruk olmak üzere üç kısımdan oluşan ve canlı iken çok hareketli bir cisimciiktir. Baş ve orta parça spermium'un 1/6 sını, kuyruk ise 5/6 sını yapar.

Spermiogenezis :

Erkek germ hücrelerinin olgunlaşma olayına spermiogenezis adı verilir. Bu olay bütün yüksek organizmalı canlı türlerinde testis adı verilen erkek üretim organında (gonadlarında) yapılır. Spermiogenezis insanda,

erginlik çağı ile başlayıp ileri yaşlara kadar aralıksız sürer. Fakat testislerin spermium yapabilme gücü ileri yaşlarda çok yavaşlar. Bu yaşlardaki insanların testislerindeki tubuli contorti seminiferilerin birçoğları gerileyip ortadan kalkmıştır. Buna rağmen spermiogenetik faaliyet erkekte az da olsa ölüme kadar devam eder.

Spermium'ların ilk ana hücresi "Spermatogonium"lardır. İntrauterin hayatta testisteki tubuli contorti seminiferi'lerin içerisinde sadece bu hücrelere rastlanılır. Bunlar fetal hayatta başlayan ve post-natal hayatta devam eden mitoz'lar ile bölünerek çoğalırlar. Bu olaya : Çoğalma devri denir. Şu halde spermiogenezisin birinci dönemini oluşturan çoğalma devrinde mitoz ile sürekli olarak spermatogoniumlar yapılagelmektedir. Belirli sayıdaki mitozdan sonra bu çoğalma durur ve bu hücrelerin bazılarında bir büyüme başlar. Bu şekilde spermiogenezisin ikinci dönemi : Büyüme devri başlamıştır. Büyümeye başlayan bu hücreler "Spermatocyt I" adını alırlar. Şu halde ikinci dönem olan büyüme devrinde spermatosit I ler yapılmaktadır. Bu periyod olgunlaşma dönemine bir hazırlıktır. Bu dönemde, nüvede, uzamış bir profaz olarak kabul edilen, bir takım değişiklikler olur. Üçüncü dönem olan olgunlaşma devresinde birbirini takip eden iki bölünme olur ve bu bölünmeler sonunda kromozom sayısı yarıya iner. Bu nedenle olgunlaşma bölünmesine "redüksiyon bölünmesi" veya "Meiosis" de denir. İlk bölünmede "Spermatocyt II" yapılır. Onun bölünmesiyle de "Spermatid" ortaya çıkar. Spermatosit II nin ömrü çok kısadır. Bu hücre olur olmaz tekrar bölünerek spermatid haline geçer. Bu nedenle testis kanalcıklarında spermatosit II ler çok güç saptanabilir.

Spermatidler de tam olgun hücreler değildir. Bunların tam olgun hale gelebilmeleri için "Spermiohistogenezis" dönemini geçirmeleri gereklidir ki bu devrede de "sertoli hücreleri" ile bir süre müşterek hayat

"Symbiosis" sürmeleri gereklidir. Sertoli hücreleri testis içindeki tubuli contorti seminiferilerin duvarında aralıklı olarak yerleşmiş oval veya armut biçimi nüveli, bol sitoplazmalı hücrelerdir. Ufak, ovalimsi, hafif bazofil sitoplazmalı ve oldukça kompakt nüveli bir hücre olan spermatid bir başak demetini andıracak şekilde bu sertoli hücrelerinin sitoplazmaları içerisine girerek, birbirini izleyen değişikliklere uğradıktan sonra, spermiumun yukarıda anlattığımız en son şeklini alacaklardır. İşte, spermatidlerin Sertoli hücrelerinin sitoplazmaları içerisinde spermium haline gelene kadar geçirdikleri bu döneme spermiohistogenezis denir.

Spermatogoniumdan spermium gelişene kadar 19-20 günlük bir süre geçer. Bu sürenin 10 günü olgunlaşma süresine aittir, Sertoli hücreleri ile olan symbiosis dönemi ise yarım veya bir saat kadar sürer.

Gelişimlerini tamamlayan spermiumlar tubuli kontorti seminiferilerin boşluğına düşerler. Buranın hafif alkalın reaksiyonu nedeniyle bu anda spermiumlar hareketlidirler ve kendi aktif hareketleriyle Rete testis'e oradan da "Ductus efferentes" yolu ile Ductus epididymidis'e ulaşırlar. Burada ve özellikle kuyruk kısmında reaksiyon hafif asittir. Bu asit ortam nedeniyle spermiumlardaki hareket gücü kaybolur ve birbirlerine sokuşarak kümeler halinde toplanırlar. Bu suretle spermiumlar epididimde toplanıp olgunlaşmalarını tamamlarlar. Olgun halde iken içerdikleri bazı fermentler burada yapılmaktadır. Spermiumların epididim içerisindeki bu depolanma olayının bir başka nedeni de vardır. Spermiumların yapılması testislerde kesintisiz olmasına karşılık yapılan miktar döllenme için yeterli değildir. Epididimdeki bu birikme sonucu bir ejakulat için gerekli sayıda spermium sağlanmış olur. Spermatogenezis olayı farelerde ve insanlarda aynı biçimde cereyan eder ^{10,14}.

Fare testisinin Histolojik Yapısı :

Fare testisinin histolojik yapısı germinatif epitelle düşeli seminifer tubuluslar ile tubuluslar arasında yer alan stromadan meydana gelmiştir. Stromada Leydig veya interstisyel hücreler kan ve lenf damarları yer almaktadır.

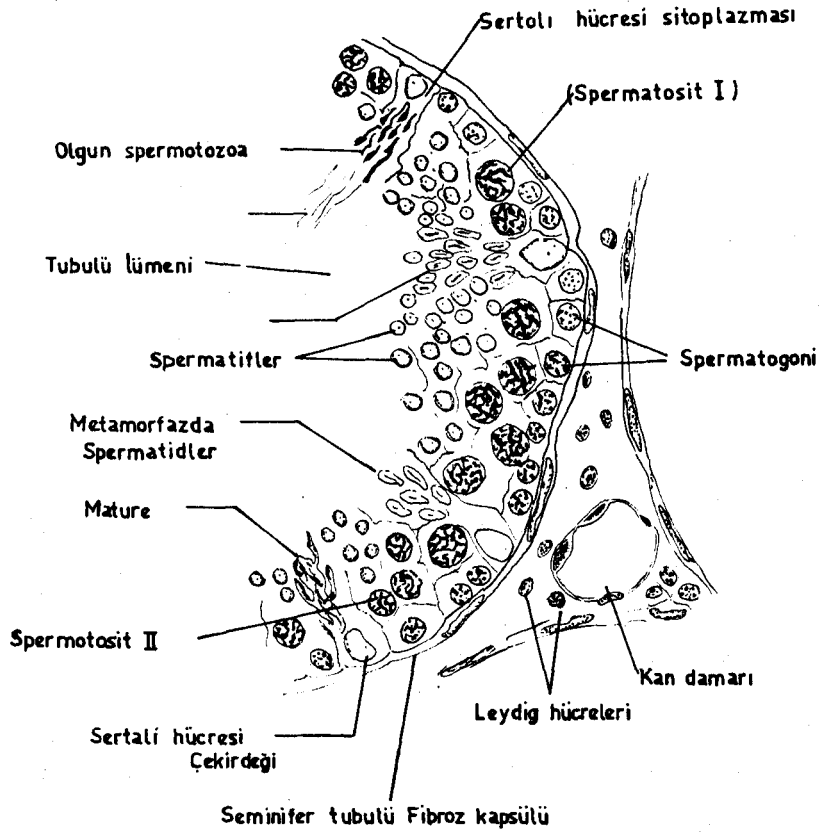
İnterstisyel hücrelerin sitoplazmaları eozinofiliktir ve içlerinde bir veya daha çok nukleolus bulunan büyük bir nukleusları vardır. İnterstisyel hücrelerin erkek testesteron hormonunu salgıladıklarına inanılmaktadır. Seminifer tubuluslar içerisinde spermatogenik hücrelerin yanısıra bõrde sertoli hücreleri bulunmaktadır. Bunlar besleyici hücrelerdir. Sertoli hücreleri kaideleri ile bazal membrana otururlar ve lümen içine doğru uzanırlar. Nukleusları oral ve koyu renklidir. Nukleus içinde çok sayıda nukleolus bulunur. Sitoplazmaları içinde santral yerleşim gösteren asidofilik bir cisim ve periferde birkaç bazofilik cisim mevcuttur.

Sertoli hücreleri aktivitelerine bağılı olarak çeşitli görünüşler alabilirler. İstirahat safhasında yüksekliklerini kaybederek bazal membrana yaklaşırırlar. Nukleusları bazal membrana paralel hale gelir. Spermatidin spermatozoona metamorfozu sırasında taşıyıcı bir hücre olarak iş görürler, bu sırada prizmatik hal alırırlar, nukleusları bazal membrana dik olur. Sitoplazmalarının lümene bakan kısmı birçok matur spermatozoanın baş kısımlarını ihtiva etmektedir. Kuyruk kısımlar serbestçe lümene doğru uzanır.

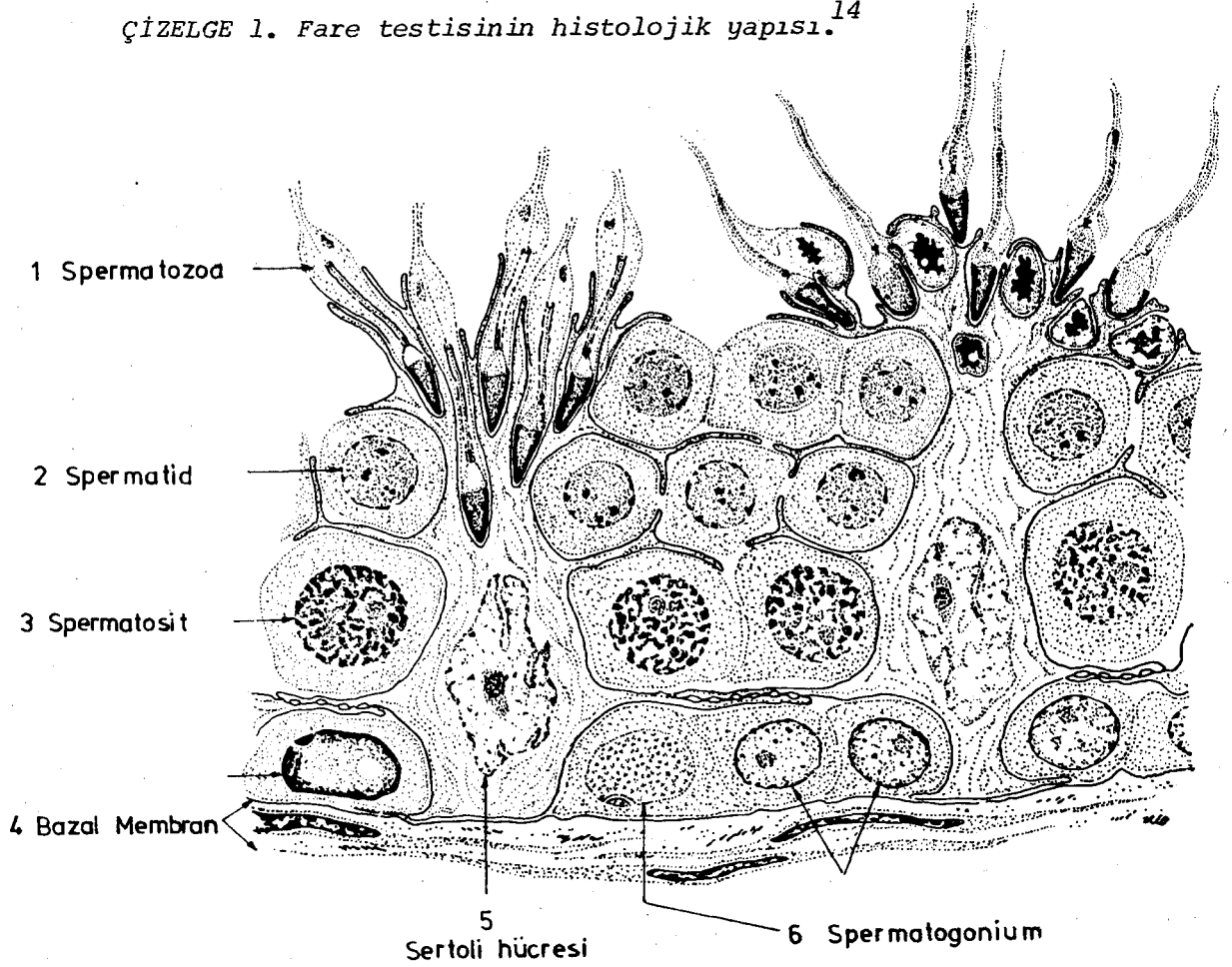
Seminifer tubuluları döşeyen germinatif hücreler sırayla bazal membrana en yakın olan spermatogoniumlar, spermatozosit I ler, spermatozosit II

ler spermatidler ve spermatozoalardan meydana gelmektedir.

Fare testisinin histolojik yapısı insan testisinin histolojik yapısına tamamen uymaktadır (Çizelge 1 ve 2)^{6,14}.



ÇİZELGE 1. Fare testisinin histolojik yapısı.¹⁴



ÇİZELGE 2 : İnsan testis dokusunun histolojik yapısı.¹⁰

G E R E Ç v e Y Ö N T E M

DeneYlerimizde kullanılan Swiss Albino Tipi 20-30 gr ağırlığında üreme dönemindeki erkek farelerin bir kısmı Eskişehir Veteriner Müdürlüğü Biyokimya Laboratuvarı'ndan diğlerleri Hacettepe Cerrahi ve Tıbbi Araştırma Merkezi'nden sağlanmıştır.

Araştırmamızda 80 adet nitelikleri yukarda belirtilen erkek fare kullanılmıştır.

3 çeşit antibiyotik kullanılarak yapılan deneylerde fareler aşağıda gösterildiği gibi biri kontrol gurubu olmak üzere 4 guruba ayrılmıştır.

GURUP I : Kontrol gurubu (20 adet fare)

GURUP II: Principen (Amphicillin) uygulanan gurup (20 adet fare)

GURUP III: Maksipor (Sefalosporin) uygulanan gurup (20 adet fare)

GURUP IV: Rifocin (Rifampisin) uygulanan gurup (20 adet fare).

DeneY boyunca Ankara Yem Sanayii'nin hazır fare yemleri ile beslenen hayvanların su gereksinimi şehir şebekesinden sağlanmıştır.

Hacettepe Üniversitesi Farmakoloji Bilim Dalı'nda fare için saptanan antibiyotik dozuna uyularak (~ 4 mg/kg) bulunan değerler 0.2 cc serum fizyolojik içinde intraabdominal olarak 7 gün süre ile her gün bir defa olmak üzere farelere verilmiştir.

Sekizinci gün boyun kırılma yöntemi ile öldürülen farelerde tam otopsi yapılmış ve testislerin makroskopik incelenmesinden sonra Bouin solusyonunda tesbit edilmiştir. Tüm gurupların makroskopik incelenmesinde kayda değer yapısal değişiklik saptanmamıştır.

Tesbiti izleyerek tesbit dokusundan hazırlanan parafin bloklardan 6-8 mikron kalınlığında yapılan kesitler Hematoksilen-Eozin (H-E) ek olarak Periodik Asit Schiff (P.A.S.), Trichrom-Mason, Oil Red-O histokimyasal yöntemleri ile boyanmış ve ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Tüm deney hayvanlarının testis doku örneklerinden hazırlanan her kesitte 10 seminifer tubulus içindeki germinatif hücreler farklılaşım dönemlerine göre X40 büyütmede sayılmıştır.

Bulgular kısmında bildirilen spermatogenezise ilişkin değişimler dışında özel histokimyasal yöntemler ile kayda değer bir bulgu saptanmamıştır.

Kontrol gurubu ile değişik antibiyotikler uygulanan guruplarda bulunan değerler birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

Kontrol gurubu ile değişik antibiyotikler uygulanan gurupların tek tek karşılaştırılmasında iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi kullanılmış olup antibiyotik uygulanan guruplara ait bulunan değerlerin de birbiriyle karşılaştırılmalarında "Ki-kare önemlilik testi" uygulanmıştır. Bu istatistiksel değerlendirmelerde "Sağlık Bilimlerinde Araştırma

Teknikleri ve İstatistik" ve Tıbbi ve Hayati İstatistik" kitaplarında önerilen yöntemler kullanılmıştır^{4,16}.

Bouin Solusyonunun Terkibi :

<i>Picric acid, suda doymuş eriyiği</i>	<i>.....</i>	<i>750 cc</i>
<i>Formalin (38-40 % Formaldehyde)</i>	<i>.....</i>	<i>250 cc</i>
<i>Glacial acetic acid</i>	<i>.....</i>	<i>50 cc</i>

Parçalar büyüklüğüne göre 2-4 saat tesbit edilir. 4-6 saat % 50 Alkol içinde müteaddit defalar değiştirilmek suretiyle yıkanır. % 70 etanol içinde saklanır.

B U L G U L A R

Makroskopik Bulgular :

Kontrol gurubu ve Antibiyotik tatbik edilen gurupların testis dokularının incelenmesinde iki doku arasında farklı bir bulguya rastlanmamıştır.

Mikroskopik Bulgular :

KONTROL GURUBU :

20 farenin testis dokusunun incelenmesinde kapsülde, interstisyumda ve seminifer tüplerde belirgin bir patolojik bulgu gözlenmemiştir. Sadece seminifer tüp lümenlerinde az sayıda eozinofilik boyanan ve dejeneratif hücre izlenimi veren yapılar saptanmıştır (Resim 1-2).

RESİM 1 : Kontrol gurubu. Normal fare testisi. (H-E, X120).

RESİM 2 : Resim 1'in büyük büyütmesi. (H-E, X600).

DENEY GURUPLARI :

Principen Gurubu : Seminifer tübülülerde spermatogoniumlar normal sayı ve yapıda bulunmuş, daha sonraki hücre seviyelerinde ise (Spermatosit I, Spermatoosit II, Spermatid ve Spermatozoid) azalma görülmüştür (Resim 3-4).

RESİM 3 : Penicilin uygulanan gurupta testis. (H-E, X120).

RESİM 4 : Resim 3'n büyük büyütmesi. (H-E, X600).

Bu hücrelerin ayrı ayrı sayımından elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde (T testine göre) bulunan P önemlilik değerleri aşağıdaki gibidir, (Tablo 2).

Principen uyguladığımız grupta elde ettiğimiz değerler

Spermatogonium	P > 0.50
Spermatosit I	P < 0.001
Spermatosit II	P < 0.01
Spermatid	P < 0.001
Spermatozoon	P < 0.001

Rifocin Gurubu : Principen verilen gruptaki değerlere benzer değerler elde edilmiştir. (Resim 5-6). P değerleri şöyledir, (Tablo III).

RESİM 5 : Rifocin uygulanan grupta testis. (H-E, X120).

RESİM 6 : Resim 5'in büyük büyütmesi. (H-E, X600).

Spermatogonium	$P > 0.10$
Spermatosit I	$P < 0.001$
Spermatosit II	$P < 0.001$
Spermatid	$0.10 > P > 0.05$
Spermatozoon	$P < 0.001$

Maksipor Gurubu : İlaç uyguladığımız diğer 2 guruptan farklı olarak bu guruptaki hayvanlarda seminifer tübülülerde spermatogonialar dahil olmak üzere her hücre seviyesinde sayıca azalma gözlenmiştir, (Resim 7-8). P değerleri şöyledir (Tablo IV).

RESİM 7 : Maksipor uygulanan gurupta testis (H-E, X120).

RESİM 8 : Resim 7'nin büyük büyütmesi. (H-E, X600).

<i>Spermatogonium</i>	$P < 0.001$
<i>Spermatozoid I</i>	$P < 0.001$
<i>Spermatozoid II</i>	$P < 0.001$
<i>Spermatid</i>	$0.50 > P > 0.20$
<i>Spermatozoid</i>	$P < 0.001$

Penisilin, Rifosin ve Maksipor uygulanan deney hayvanlarında kontrol gurubunda da az sayıda izlediğimiz dejenere germinatif hücre izlenimi veren yapılar kontrol grubuna göre daha fazla sayıda izlenmiştir.

Principen, Rifocin ve Maksipor'un birbirleri ile karşılaştırmada etkinlik derecelerini tayin etmek üzere uyguladığımız Ki kare testinde $\chi^2 = 7.22$ bulunmuştur. Bulduğumuz bu sayının Ki-kare tablo değeri ile karşılaştırmamızdan elde ettiğimiz değer $P > 0.50$ (önemsiz) dir.

<i>Spermatogonium</i>	<i>Spermatozit I</i>	<i>Spermatozit II</i>	<i>Spermatid</i>	<i>Spermatozoid</i>
50.5	40.5	21.1	49.1	66.9
47.3	41.3	13.1	65.7	48.6
41.1	32.5	14.2	25.5	45.8
31.3	45.6	28.1	34.6	90.8
60.4	51.9	10.9	49.2	75.9
41.3	47.1	44.7	51.4	67.7
42.0	36.3	23.5	84.9	68.5
45.6	42.0	19.8	39.1	57.6
47.1	40.8	15.1	41.9	64.0
41.4	47.1	17.0	32.8	50.7
53.8	42.1	20.9	50.7	69.5
48.6	42.4	12.2	66.6	47.9
30.8	31.4	13.9	24.6	46.0
41.3	47.6	29.2	34.9	92.2
61.7	50.3	9.8	48.9	74.9
41.0	46.4	45.5	52.4	66.2
41.1	36.8	26.3	85.6	69.0
42.6	41.3	18.0	38.4	57.1
47.8	39.6	14.6	42.3	62.1
39.3	47.2	16.9	29.8	51.6

*TABLO I : Kontrol gurubundaki farelerin seminifer tubulusları
içindeki germinatif hücrelerin sayımından elde edilen
değerler.*

<i>Spermatogonium</i>	<i>Spermatosit I</i>	<i>Spermatosit II</i>	<i>Spermatid</i>	<i>Spermatozoid</i>
45.6	35.0	1.2	51.9	20.5
47.8	42.4	1.3	93.8	23.2
38.2	29.4	0.4	60.5	25.2
54.1	30.2	1.5	91.0	19.6
37.6	31.1	2.2	75.6	17.4
40.1	32.0	3.9	65.9	24.5
49.8	32.2	1.5	54.5	23.7
48.6	33.2	3.6	60.6	23.6
51.7	25.6	1.9	70.8	29.2
47.4	29.2	2.9	60.7	20.0
46.1	52.1	2.0	95.9	22.3
49.7	59.0	3.5	61.4	21.8
37.7	34.8	2.1	52.2	24.3
53.2	54.7	5.3	90.1	20.1
39.0	45.3	4.2	73.4	18.8
39.1	42.1	3.9	66.0	23.1
50.5	44.4	4.0	55.8	25.4
47.2	51.9	5.7	62.3	21.9
52.4	46.8	3.6	69.5	27.2
45.3	38.0	2.9	58.7	22.0

TABLO II : Principen uygulanan guruptaki farelerin seminifer tubulusları içindeki germinal hücrelerin sayımından elde edilen değerler.

<i>Spermatogonium</i>	<i>Spermatosit I</i>	<i>Spermatosit II</i>	<i>Spermatid</i>	<i>Spermatozoid</i>
44.2	31.6	1.7	42.5	15.5
38.3	22.4	1.9	20.9	17.7
57.9	38.2	2.4	26.5	21.9
48.9	27.1	1.8	48.0	13.0
37.5	21.0	0	50.3	12.9
39.2	30.1	3.0	43.5	20.5
50.1	44.2	1.4	23.9	21.4
45.1	23.4	0	22.8	22.8
45.6	27.5	2.0	33.9	21.4
34.3	25.2	2.2	26.3	19.0
35.3	32.6	1.5	44.2	16.4
43.8	21.4	2.6	20.2	18.7
57.6	39.2	1.9	25.7	21.0
38.2	26.1	0	47.8	21.7
38.7	22.0	2.0	51.2	12.0
37.5	29.1	2.8	43.6	12.6
52.1	45.3	0	24.0	21.2
44.6	22.3	2.2	21.6	19.4
46.5	28.1	0	36.8	20.6
41.3	24.6	3.4	23.5	23.1

TABLO III : Rifocin uygulanan guruptaki farelerin seminifer tubulusları içindeki germinal hücrelerin sayımından elde edilen değerler.

<i>Spermatogonium</i>	<i>Spermatosit I</i>	<i>Spermatosit II</i>	<i>Spermatid</i>	<i>Spermatozoid</i>
23.6	22.1	2.3	38.9	11.5
25.5	25.8	3.1	42.6	12.5
25.6	23.2	2.1	40.4	12.6
28.9	27.9	1.0	45.1	14.6
33.6	26.4	0.8	50.9	19.5
24.0	25.3	0.9	35.8	13.9
37.5	31.4	3.5	42.7	18.8
24.3	23.1	3.2	38.5	13.1
26.5	25.0	2.7	39.7	14.7
30.5	27.9	0.7	40.3	20.3
22.7	23.5	3.1	39.4	12.7
27.7	24.4	2.8	44.1	13.4
23.9	24.3	1.6	39.9	11.7
29.8	28.3	2.0	44.6	13.6
32.8	25.8	0	51.1	20.3
23.4	25.6	0.8	34.8	13.1
37.0	30.2	1.2	42.5	20.3
23.6	22.4	3.2	37.0	12.6
27.6	24.7	2.7	40.2	14.2
29.3	27.5	2.9	41.3	19.8

TABLO IV : Maksipor uygulanan guruptaki farelerin seminifer tubulusları içindeki germinatif hücrelerin sayımından elde edilen değerler.

T A R T I Ő M A

Bu alışmada Rifocin, Principen ve Maksipor'un tedavi dozlarında ve bir hafta süreyle uygulandıklarında testis dokusu üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Daha önce bazı sitostatik ilaçların testis dokusu üzerinde değişiklikler meydana getirdiklerine değinilmiştir. Schwartz¹⁵ uzun süre stilbesterol kullanıldığında, bu ilacın insan testisi üzerinde harabiyete neden olduğunu, Stilbesterol alan hastaların testis biyopsilerinin değerlendirilmesinde, seminifer tubulusların bazal membranlarında fibrozis ile birlikte tübüler atrofi ve germinatif hücrelerde dejenerasyon meydana geldiğini, seminifer tüplerdeki bu değişikliğin yanı sıra intestisyel fibrozis oluştuğunu ve bazan Leydig hücrelerinin tamamen ortadan kalktığını belirtmektedir.

Berry ve Fairley³ malign lenfomaların tedavisinde kullanılan Cyclophosphamide'in tübüler atrofi ve bunun sonucu olarakta azospermi meydana gelmesine neden olduğunu kaydetmektedirler.

Richter¹³ yine malign lenfomaların tedavisinde kullanılan Clorambusilin peritubler fibrozis meydana getirdiğini bildirmektedir.

Antibiyotiklerle yapılan az sayıdaki deneysel çalışmalarda ise bu araştırmacıların tarif ettikleri biçimde morfolojik değişikliklerden söz edilmemektedir. Bizim çalışmalarımızda elde ettiğimiz bulgular arasında interstisyel fibrozis, tübüler atrofi gibi morfolojik değişikliklere rastlanmamakla beraber seminifer tubulus lümenlerinde eozinofilik boyanan ve dejenere olmuş germinatif hücre izlenimi veren yapılar mevcuttu. Bu bulguyu kontrol gurubunda daha az olmak üzere deney yaptığımız bütün farelerde izledik.

⁸
Kuşnirak 1973 de Tetracycline ve Streptomycine'in spermatogenezis üzerindeki etkilerini incelemiş, tedavi dozunda Tetracycline uyguladığı grupta toplam sayılarının ortalamalarının kontrol gurubu ile karşılaştırılmasında, istatistiksel önem taşıyan bir azalma olduğunu bildirmiştir. Kusniruk elde etmiş olduğu bu bulguların, spermatogoniumlardaki mitotik aktivitenin azalması sonucu meydana geldiğini düşünmüştür. Daha sonra yine bu yönde yaptığı bir çalışmada ⁹ yarı kantitatif bir yöntemle hücre çekirdeğindeki DNA ve sitoplazmadaki RNA miktarlarındaki değişiklikleri saptamış ve DNA miktarındaki azalmaya işaret ederek mitotik aktivitenin bu nedenle azaldığını belirtmiştir.

Bizim tedavi dozunda 7 gün süreyle Maksipor uyguladığımız grupta elde ettiğimiz bulgular Kusniruk'un Tetrasiklin uygulayarak almış olduğu sonuçlara tamamen uymaktadır.

Maksipor uyguladığımız grupta seminifer tubuluslar içindeki tüm germinatif hücrelerde kontrol gurubuna göre sayıca önemli derecede bir azalma dikkati çekmektedir. Seminifer tubuluslar içindeki tüm germinatif hücrelerin sayımından elde ettiğimiz rakamların istatistiksel değerlendirilmelerinde; spermatogoniumlar için $P < 0.001$ gibi istatistiksel açıdan

önem taşıyan bir değer elde edilmiştir. Spermatogonium sayısındaki bu azalma bizim maksipor uyguladığımız gurupta da spermatogoniumlardaki mitotik aktivitenin azaldığını düşündürmektedir. Çünkü seminifer tubuluslarda nekroz fibrozis veya atrofi gibi bu azalmayı izah edebilecek bir bulguya rastlanmamaktadır.

Principen ve Rifocin'le elde ettiğimiz bulgular ise maksipor uygulanmasında elde ettiğimiz bulgulardan farklılık göstermektedir. Bu iki antibiyotiği alan farelerde spermatogonium sayıları normal sınırlarda olup sayısal azalma Spermatozoid I 'lerden itibaren başlamaktadır.

¹⁷
Timmerman 1974 yılında çeşitli antibiyotiklerin testis dokusu üzerinde meydana getirdiği histokimyasal değişiklikleri incelemiş ve antibiyotiklerin spermatogenezisi Spermatozoid I evresinde durdurduğunu bildirmiştir.

Bizim Timmerman'ın bu modeline uygun olarak yaptığımız deneysel çalışmamızda her üç antibiyotikle almış olduğumuz sonuçlar ise biraz değişiklik göstermektedir. Maksipor spermatogenezisi spermatogonium evresinde durdurmaktadır. Rifosin ve Principen uygulanan farelerde yukarıda da bahsettiğimiz gibi germinal epitel hücrelerinde azalma spermatozoid I evresinden itibaren başlamaktadır. Eğer Timmerman'ın modelinde olduğu gibi duraklama spermatozoid I evresinde olsaydı spermatozoid I 'lerin sayılarında kontrolla karşılaştırmada bir farklılık görülmemesi gerekirdi. O halde bizim bulgularımıza göre Principen ve Rifocin uygulamalarında spermatogenezisteki duraklama spermatogoniumlardan spermatozoid I'e geçişte, yani büyüme devresindedir (Metamorfoz).

²
Dakov ve Timmerman birlikte yaptıkları bir çalışmada germinatif hücrelerin antibiyotiklere verdikleri cevap uniform değildir, kullanılan

antibiyotiğin cinsine göre değişir demektedirler. Onların bu gözlemleri, bizim uyguladığımız üç ayrı antibiyotikten aldığımız farklı sonuçların izahında bize destek olmaktadır.

Yunda ve Kusniruk²³ antibiyotik kullanan hastalarda testisin fonksiyonlarını araştırmak amacı ile 50 hastanın spermiyogram sonuçlarını değerlendirmişler ve ejakulat içindeki spermatozoid sayısında azalma olduğunu saptamışlardır. Başlangıçtan beri çeşitli araştırmaların sonuçları ve bizim elde ettiğimiz bulgular gözönüne alınırsa onların bu bulgularının antibiyotiklerin germinatif hücre üzerindeki etkilerinin doğal bir sonucu olduğu kolaylıkla söylenebilir.

Yabancı literatürde çok az sayıda araştırılan ve ülkemizde daha önce araştırma konusu olmayan bu deneysel çalışmalarımızla biz de Amphicylin ve Sefalosporin gurubu antibiyotiklerin spermatogenezisi olumsuz yönde etkilediklerini vurgulamış olduk ve Rifamycin gurubu antibiyotikleri de spermatogeneziste arreste neden olan antibiyotikler listesine dahil ettik.

İnsan ve fare testislerinin histoloji ve fonksiyon yönünden benzerlik göstermeleri nedeni ile erkek infertilitesinde sebebi bulunamayan matürasyon arresti vakalarında antibiyotiklerin spermatogenezis üzerindeki olumsuz etkilerinin dikkate alınmasının uygun olacağı kanısındayız.

S O N U Ç

1. Bu çalışma, antibiyotiklerin tedavi dozunda kullanılmalarında testis üzerinde spermatogenezise olan gösterilmiş olumsuz etkilerini kanıtlar niteliktedir.
2. Penicillin (Principen) ve Rifocin gurubu antibiyotiklerin deneysel uygulanmasında yapısal düzeyde spermatogonilerin normal hudutlar içinde izlenmesine karşın, spermatogenezisin bunun üzerindeki düzeylerinde sayısal azalma gözlenmiştir. Bu gözlem, bu gurup antibiyotiklerin spermatogenezisde spermatogoniumdan spermatozoid I 'e geçiş döneminde etkili olduğunu düşündürür niteliktedir.
3. Buna karşın Selalosporin gurubu antibiyotik (Maksipor) verilmesinde gözlenen spermatogonileri de içeren sayısal azalma, bu ilacın premitotik mitoz evresinde etki gösterdiğini telkin etmektedir.
4. Deneylerimizde önceden denenmemiş ve klinik uygulamada önemli yeri olan Rifocin'in de yukardaki antibiyotikler gibi spermatogenezisi olumsuz yönde etkilediği saptanmıştır. Rifocin'in bu etkisinin Penicillin gurubuna benzerlik gösterdiği dikkati çekmiş ve muhtemelen aynı düzeyde etkisini gösterdiği sonucuna varılmıştır.
5. Bu çalışmamız bazı nedeni bulunamayan erkek infertilitesi vakalarında

antibiyotiklerin de sorumlu olabileceği olasılığının dikkate alınması gerekliliğini bir kez daha ortaya koymakta ve bu antibiyotikler arasında Rifocin'in de bulunabileceğini dűşündürmektedir.

Ö Z E T

Bu çalışmada, antibiyotiklerin tedavi dozunda uygulanmalarında testis üzerinde spermatogeneze olan etkilerinin incelenmesi amacı ile Swiss Albino cinsi üreme döneminde, 20-30 gm erkek fareler kullanılmıştır.

Dört gurup halinde yürütülen çalışmada toplam 80 fare kullanılmış olup her gurup 20 fareden oluşmuştur. Birinci gurubu kontrol hayvanlarının oluşturduğu bu çalışmada diğer üç gurubu sırası ile Principen, Rifocin ve Maksifor antibiyotikleri 7 gün süre ile her gün 4 mg/kg, intraabdominal olarak verilmiştir.

Sekizinci gün boyun kırılma yöntemi ile öldürülen tüm hayvanlarda sistemik otopsi uygulanmış ve bu arada çıkarılan testislerden alınan dokü örneklerinde seminifer tubuluslarda tüm germinatif hücrelerin sayımı yapılmıştır. Bulunan değerler guruplararası istatistiki değerleri açısından değerlendirilmiştir.

Tedavi dozunda uygulanan tüm antibiyotiklerin farelerde spermatogenezi olumsuz yönde etkiledikleri, bu hücrelerde sayısal azalma ile gözlenmiş olup uygulanan antibiyotiklerin tümüne bağlı olarak bu olumsuz, spermatogenezi duraklatıcı etkinin spermatogenezisin farklı düzeylerinde olduğunu düşündürür nitelikte bulgular saptanmıştır.

K A Y N A K L A R

1. Ackerman, L.V., and Rosai, J. : *Surgical Pathology, Fifth ed., Chap. 17,*
S: 719, *The C.V. Mosby Company, 1974.*
2. Dakor, V.K., et al. : *Arrest of spermatogenesis by various antibiotics.*
Preliminary experimental results. Acta Urologica Belgica, 38: 277-87,
1970.
3. Fairley, K.F., Barrie, J.V., and Johnson, W. : *Sterility and testicular*
atrophy related to cylophosphamide therapy. Lancet, 1: 568-69, 1972.
4. Gülesen, Ö.D. : *Tıbbi ve Hayati İstatistik, 1969.*
5. Kayaalp, O. : *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Cilt 1,*
Sayfa , Ayıldız Matbaası A.Ş., Ankara, 1979.
6. Kayalı, H. : *İnsan Embriyolojisi, 1 inci baskı, Bölüm 1, S: 13-16, 1977*
7. Kumar, R., Biggart, J.D., McEvoy, J. and McGeown, M.G. : *Cyclophosphamide*
and reproductive junction. Lancet, 1: 1212-14, 1972.

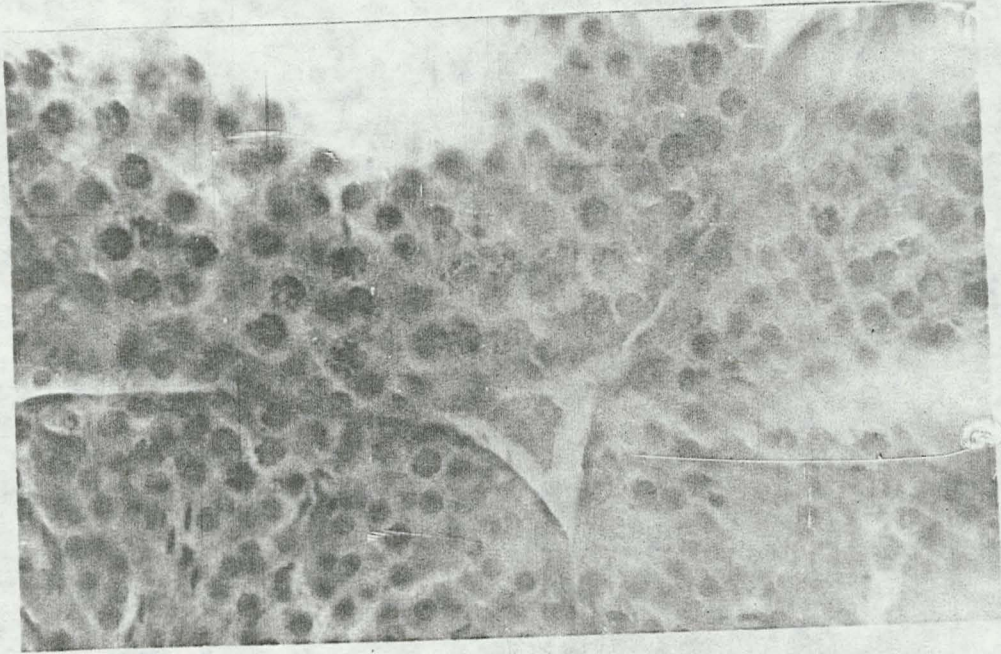
8. Kushniruk, Y.I. : Effect of streptomycine and tetracycline on spermatogenesis. *Vrachebnoe Delo*, 12: 65-8, 1973.
9. Kushniruk, Y.I. : The effect of some antibacterial products on the nucleic acids content in spermatogenic epithelium cells. *Tsitologia*, 10(4): 342-4, 1976.
10. Ladman, A.J. : The male reproductive system. Ed. Greep, R.D., and Weiss, L. : *Histology*, Third ed., Chap. 26, S: 847, Mc Graw-Hill Book Company, 1973.
11. Mostofi, F.K. : Testes, scrotum and penis. ed, Anderson, W.A.O., Kissane, J.M. : *Pathology*, Sewenth Ed., Volume II, S: 1014, The C.V. Mosby Company, 1977.
12. Ranzoni, G., et al. : Inhibition of spermatogenesis following the administration of varius antibiyotics and chemotherapeutic agents cammonly used of urologic experimental study. *Chirurgia e Pathologia Sperimentalee*, 20: 101-14, 1972.
13. Richter, P., Calamera, J.C., Morgenfeld, M.C., Rierszenbaum, A.L., Lavieri, J.C., and Maancini, R.E. : Effect of chlorambucil on spermatogenesis in the human with malignant lymphoma. *Cancer*, 25: 1026-30, 1970.
14. Rugh, R. : *The Mouse*, Chap. 2 : Reproductive Systems of Adult Mice, S: 7, Burgess Publishing Company, 1968.

15. Schwartz, M. : *The effect of stilboestrol on the testis and brest of patients treated for carcinoma of the prostate gland.*
Rocky Mountain Medical Journal, 43: 643, 1946.
16. Sümbüloğlu, K. : *Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik*, S: 121 ve 157. Çağ Matbaası, Ankara, 1978.
17. Timmermans, L. : *Influence of antibiotics on spermatogenesis.*
The Journal of Urology, 112: 348, 1974.
18. Wong, T.W., et al. : *Testicular Biopsy in the Study of Male Infertility. I. Testicular causes of infertility.* *Arch Pathol.*, 95(3): 151-9, 1973.
19. Wong, T.W., et al. : *Testicular biopsy in the study of male infertility. II. Posttesticular causes of infertility.* *Arch. Pathol.*, 95(3) : 160-4, 1973.
20. Wong, T.W., et al. : *Pathological aspects of the infertile testis.*
Urologic Clinics of North America, 5(3) : , 1978.
21. Yunda, I.F. : *Effect of antibacterial preparations on the endocrine function of the testis.* *Klinicheskaia Khirurgiia*, 10: 37-40, 1973.
22. Yunda, I.F., et al. : *Effect of neomycin in testicular function.*
Antibiotici, 18: 43-8, 1973.
23. Yunda, I.F., et al. : *Functional of the testis after the use of certain antibiotics and nitrofenan preparation.* *Antibiotiki*, 9: 843-6, 1975.





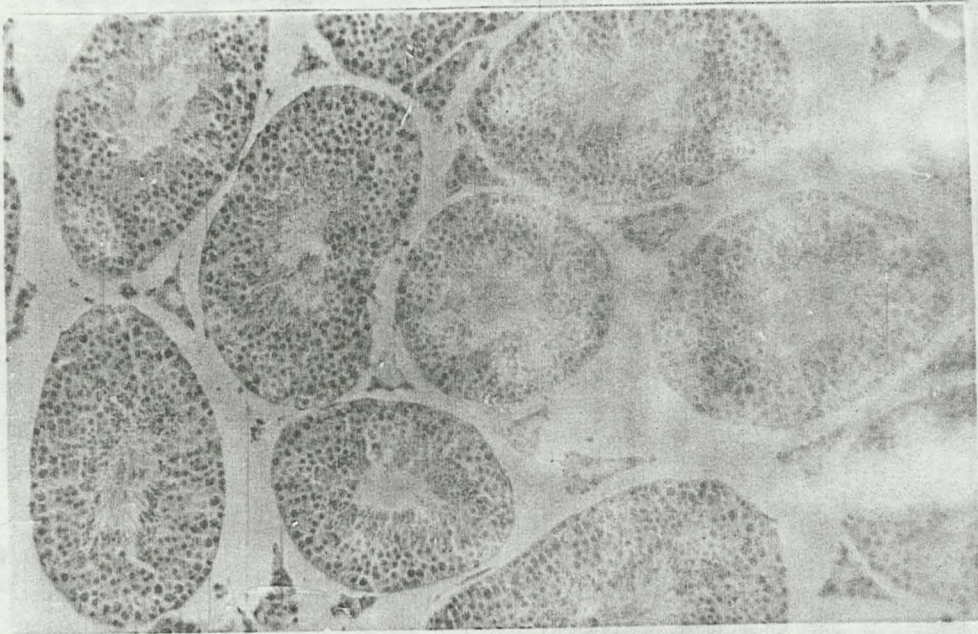
RESİM 1 : Kontrol gurubu. Normal fare testisi. (H-E, X120).



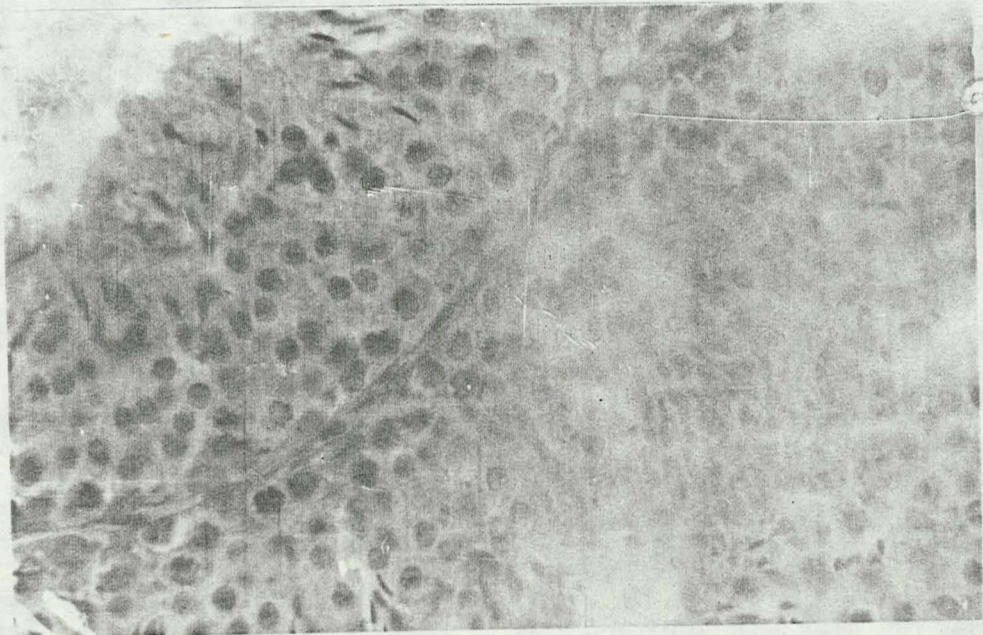
RESİM 2 : Resim 1'in büyük büyütmesi. (H-E, X600).

DENEY GURUPLARI :

Principen Gurubu : Seminifer túbülülerde spermatogoniumlar normal sayı ve yapıda bulunmuş, daha sonraki hücre seviyelerinde ise (Spermatosit I, Spermatosit II, Spermatid ve Spermatozoid) azalma görülmüştür (Resim 3-4).



RESİM 3 : Penicilin uygulanan grupta testis. (H-E, X120).

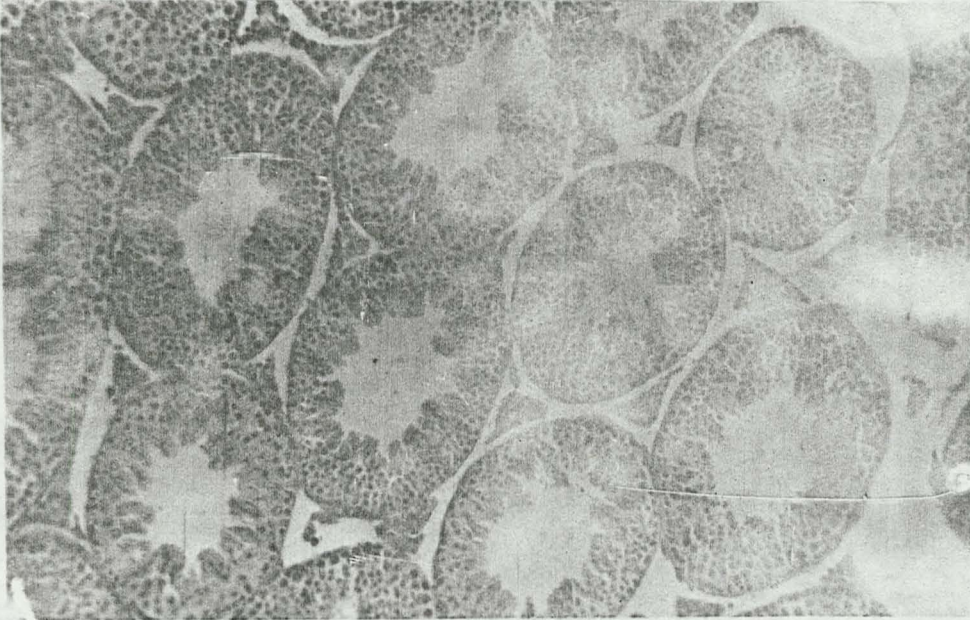


Bu hücrelerin ayrı ayrı sayımından elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde (T testine göre) bulunan P önemlilik değerleri aşağıdaki gibidir, (Tablo 2).

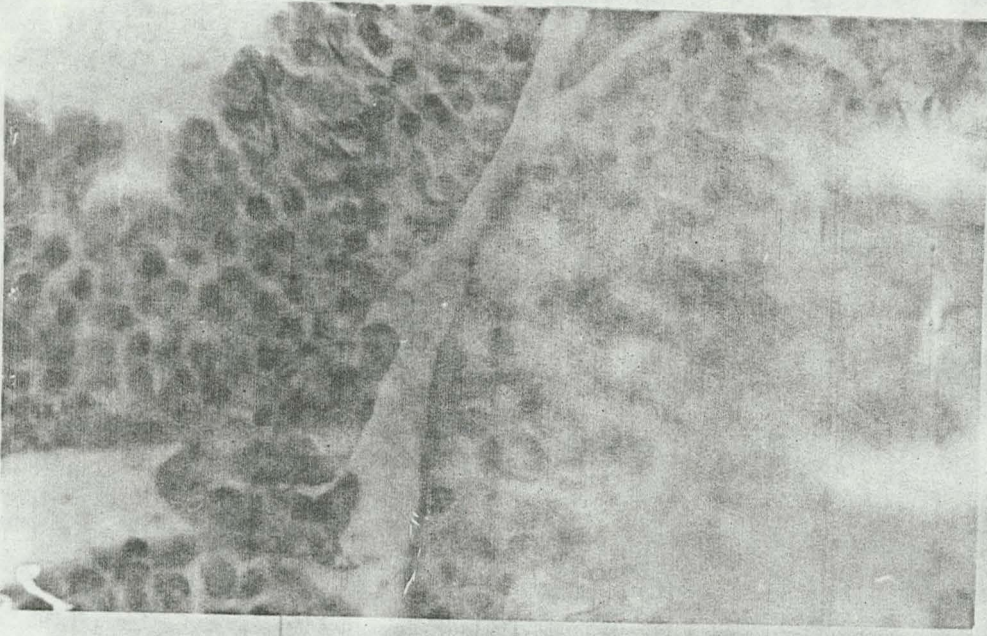
Principen uyguladığımız grupta elde ettiğimiz değerler

Spermatogonium	P > 0.50
Spermatosit I	P < 0.001
Spermatosit II	P < 0.01
Spermatid	P < 0.001
Spermatozoon	P < 0.001

Rifocin Gurubu : Principen verilen gruptaki değerlere benzer değerler elde edilmiştir. (Resim 5-6). P değerleri şöyledir, (Tablo III).



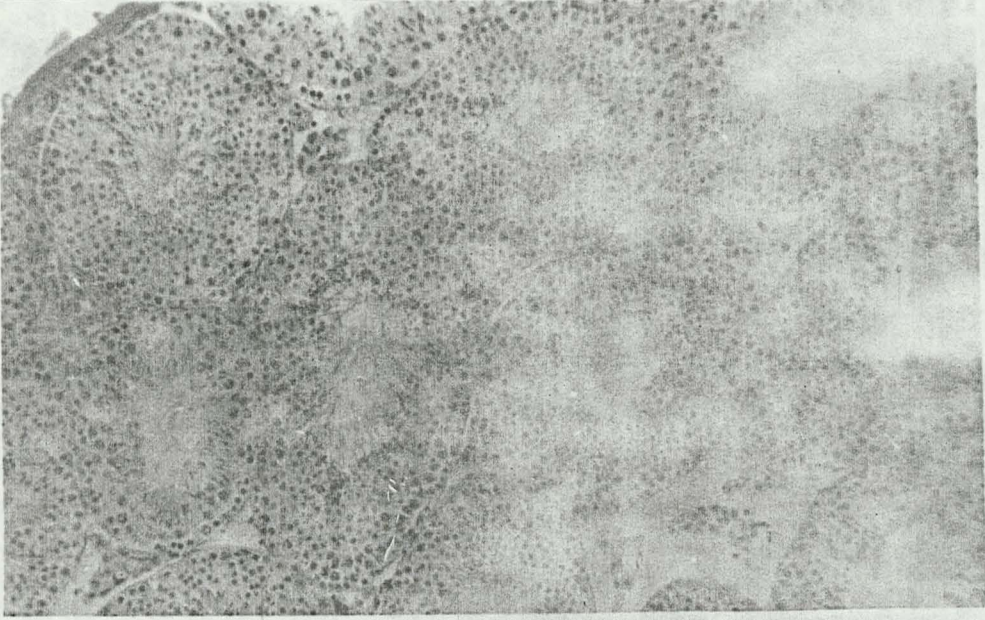
RESİM 5 : Rifocin uygulanan grupta testis. (H-E, X120).



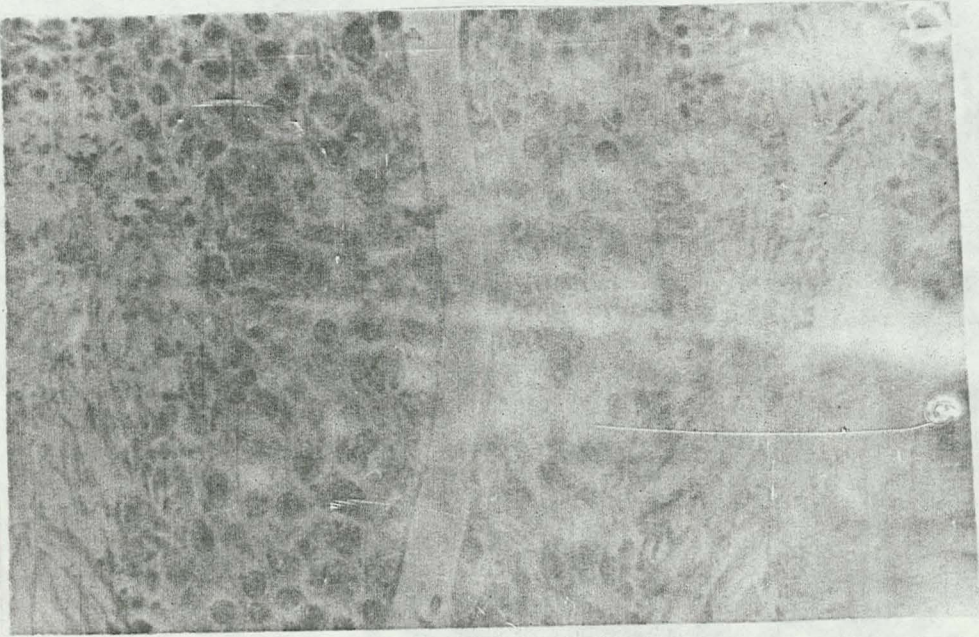
RESİM 6 : Resim 5'in büyük büyütmesi. (H-E, X600).

Spermatogonium	$P > 0.10$
Spermatosit I	$P < 0.001$
Spermatosit II	$P < 0.001$
Spermatid	$0.10 > P > 0.05$
Spermatozoon	$P < 0.001$

Maksipor Gurubu : İlaç uyguladığımız diğer 2 guruptan farklı olarak bu guruptaki hayvanlarda seminifer tübülülerde spermatogonialar dahil olmak üzere her hücre seviyesinde sayıca azalma gözlenmiştir, (Resim 7-8). P değerleri şöyledir (Tablo IV).



RESİM 7 : Maksipor uygulanan gurupta testis (H-E, X120).



RESİM 8 : Resim 7'nin büyük büyütmesi. (H-E, X600).