

T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

**HAMİLELİK DÖNEMİNDE KULLANILAN
ALKOL'ÜN YAVRU RATLARIN TESTİSLERİ
ÜZERİNDE YAPMIŞ OLDUĞU MORFOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLER**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Arş. Gör. M. Cudi TUNCER

Doç. Dr. Şükrü DOĞRUYOL
YÜKSEK LİSANS YÖNETİCİSİ

DİYARBAKIR-1997

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA</u>
GİRİŞ	1
TESTİS HAKKINDA GENEL BİLGİLER	3
GEREÇ VE YÖNTEM	11
BULGULAR	13
TARTIŞMA	21
ÖZET	24
SUMMARY	25
KAYNAKLAR	27

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmam süresince öneri ve görüşlerinden yararlandığım Anatomi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. E.Savaş HATİPOĞLU' na , Yüksek Lisans yöneticiliğimi üstlenen ve çalışmamı yönlendiren, değerli bilgileriyle bana yol gösteren Sayın Doç.Dr. Şükrü DOĞRUYOL' a, tezimin deneysel ve kontrol aşamalarında bana her türlü desteği sağlayan Sayın Uz. Dr. Engin DEVECİ' ye ve Sayın Yrd.Doç.Dr. Orhan TACAR' a teşekkürü bir borç bilirim.

Diyarbakır - 1996

Araş.Gör. M.Cudi TUNCER

GİRİŞ

Toplumların gelişmişliğini gösteren en önemli unsurlardan biri insan sağlığıdır. Sağlıklı bir toplumun oluşması için sağlıklı nesillerin, sağlıklı nesillerin oluşması için de sağlıklı bireylerin olması gerekir. Canlıların nesillerini devam ettirmesi normal bir genetal yapıya sahip olmasıyla mümkündür. Günümüzde infertilite insan sağlığının önemli sorunlarından biridir. Erkek infertilitesinde rol oynayan faktörler çok çeşitli olup bu faktörlerden biride alkoldür. İnsanlarda ve deney hayvanlarında ethanol'ün toksik etkileri yapılan çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır (10,11,14). Hamilelik ve laktasyon döneminde alınan alkolün fötus ve yavrular üzerine bir çok olumsuz etkileri olduğu, kronik alkol kullanımına bağlı olarak fertilitenin azaldığı tespit edilmiştir (13,15,24). Hamilelik döneminde anne tarafından tüketilen alkol her zaman için yavru üzerinde bir risk faktörü oluşturmaktadır. Ratlarda gebelik döneminde hergün 2X30 g ethanol kullanımına bağlı olarak spontan abortusların sıklığında bir artış gözlenmiştir (16,19). Özellikle insanlarda kronik alkolizim'de testikuler atrofiye sık rastlanmakta ve bunun sonucunda seminifer tubullerde gonodal hücre yığılmasında azalma ve germinal hücrelerde harabiyet gözlenmiştir (5,8). Anne ile yavru arasındaki ilişkiyi sağlayan plasentanın alkol kullanımı sırasında etkilendiği bilinmektedir. Bu etkilenme yavrunun total ağırlığında bir azalmaya sebebiyet verir. Kontrol grubu plasenta ağırlığı ile karşılaştırıldığında alkol tüketen annenin plasenta ağırlığı tüketmeyene göre daha düşük olduğu belirtilmiştir (7). Örneğin ratlarda hamilelik döneminde her gün 30g alkol kullanımı yeni doğan yavrunun ağırlığında istatistiksel bir azalmaya yol açar, bu durum yavrunun prenatal ve postnatal gelişimi açısından düşünülürse oldukça zararlı olduğu görülür. Hamilelikte alkolün bu olumsuz etkisi Fötal Alkol

Sendromu olarak adlandırılır. Bu sendroma bağlı olarak intrauterin gelişmede gecikme, kafatasını oluşturan kemiklerde kuculme, kalp, gogus kafesi, ekstremelerde ve genital bolgede malformasyonlar meydana gelir, karaciğer ve bobreklerde morfolojik anomalilere rastlanır (4,7,11,23). Optik sinir hypoplazisi genellikle fetal alkol sendromu ile gorulur. Bu hypoplazinin daha cok cocuklarda olduğu bildirilmiştir (17,18,25). Ethanol'un vuctta etkilediği ve irreversibl patolojik değişikliklerin şekillenmesine neden olduğu organlar arasında karaciğer başta gelmektedir. Bunun yanısıra dolaşım ve solunum sistemi bozukluklarının da goruldüğu tespit edilmiştir (21,12). Ethanol'un sedatif ve hipnotik etkisi vardır. Özellikle santral sinir sistemi üzerine etkisi alınan miktara göre değişmektedir (6,18). Saf ethanol'un cild ve mukoza üzerine yerel ve iritan etkileri de bilinmektedir. Özellikle kronik alkolizmde derinin epidermis tabakasında epitel hücrelerinde meydana gelen arazlar nedeniyle deri alkol kullanmayan insanlara göre daha soluk bir renk aldığı ve canlılığını kaybettiği vurgulanmıştır (1). Çalışmamızda hamilelik döneminde ethanol verilen ratların yavrularının vuct ağırlıkları, testis ağırlıkları ve testis dokusunda meydana gelen histopatolojik değişiklikleri inceleyerek alkolün infertilite nedenleri arasında gösterilebileceğini amaçladık.

TESTİS HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Testisin Embriyolojisi : Cinsiyetin farklanması, bir kısımda otozomal olan bir çok geni içine alan kompleks bir süreçtir. Cinsiyetin ikiye ayrılmasındaki anahtar, kısa kolunda testis-belirleyici faktör (TBF) genini taşıyan Y kromozomudur. Bu faktörün varlığı veya yokluğu gonadal farklanmayı doğrudan etkiler ve Y kromozomunda yerleşmiş olan bir çok genin rudimenter cinsiyet organlarının kaderini tayin etmek için harekete geçmesini sağlar.

Gonadlar : Embriyonun cinsiyeti fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmakla beraber, gonadların erkek veya dişi morfolojik özellikleri ancak 7. Haftadan sonra gözlemlenebilir.

Gonadlar başlangıçta, genital veya gonadal şişkinlikler denilen kölomik epitelin proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşması ile oluşmuş uzunlamasına şişlikler şeklinde görülür. Germ hücreleri, gelişimin 6. Haftasına kadar genital kıvrımlar içinde belirmez.

İnsan Embriyosunda, primordiyal germ hücreleri gelişimin erken devrelerinde, yolk kesesi duvarında allantois'e yakın bir yerde endoderm hücreleri arasında belirir. Amibik hareketlerle kör bağırsağın mezenterinin dorsali boyunca ilerler; 5. Haftanın başında primitif gonadlara ulaşır ve 6.haftada da genital kıvrımları işgal eder. Kıvrımlara gelemediği takdirde, gonadlar gelişmez. Gonadların over veya testise farklanmasında, primordiyal germ hücrelerinin belirleyici etkisi vardır.

Eğer embriyo genetik olarak erkekse, primordiyal germ hücreleri XY cinsiyet kromozom kompleksini taşırlar. Testis belirleyici faktörü (TBF) kodlayan Y kromozomunun etkisi ile, primitif cinsiyet kordonları çoğalmaya devam eder ve medullanın iç kesimlerine doğru ilerleyerek testis veya medullar kordonları

oluştururlar. Bezin hilusuna doğru, kordonlar rete testis tubullerini oluşturacak olan ince hücre sıralarından oluşmuş bir ağ şekline dönüşür.

Gelişmenin daha ileri devrelerinde testis kordonları yüzey epiteliyle olan ilişkilerini kaybeder. Daha sonra, testisin karakteristik bir özelliği olan tunica albuginea adlı yoğun fibröz bir bağ dokusuyla epitelden ayrılmış olur.

Dördüncü ayda, testis kordonları at nalı şeklini alır ve bu at nalının uçları rete testis ile devam eder. Bu durumda artık, testis kordonları primitif germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden türeyen sertoli hücrelerinden meydana gelmiştir.

İntersitisiyel Leydig hücrleri gonadal şişkinliğin orjinal mezenşiminden köken alır. Spermatik kordlar arasında yer alır ve bu kordların farklanmasından hemen sonra gelişmeye başlarlar. Gestasyonunun 8. Haftasında leydig hücrelerinden testesteron salınımı başlar. Artık testisler, genital kanal ve dış genital organların cinsiyet farklanmasını etkileyecek hale gelmiştir.

Puberteye kadar solid halde kalan kordların içi pubertede boşalarak seminifer tubulusları oluştururlar. Seminifer tubuller kanalize olduktan sonra, rete testis tubulleri ile birleşir ve ductuli efferentes'lere katılırlar. Bu efferent kanallar mezonefrik sistemin geri kalan boşaltım tubulleridir. Ductus deferens olarak bilinen bu kanallar, rete testis ile mezonefrik veya Wolffian kanalları arasındaki ilişkiyi sağlarlar.

Testisin anatomisi : Erkek üreme bezleri (testis,orchıs) ve funiculus spermaticus'u oluşturan oluşumlar skrotum'da asılıdırlar. Sol testis 1 cm kadar daha aşağıdadır. İnsanlarda testis ortalama 4-5 cm yüksekliğinde, 2,5 cm genişliğinde ve 3 cm (anteroposterior uzunluğu) kalınlığındadır. Ağırlığı 10,5-14 gr arasında değişir. Her testis oval biçimde olup, yanlardan basıktır. Testislerin dış ve iç yüzü (Facies medialis ve lateralis) ön ve arka iki kenarı (margo anterior ve margo posterior), üst

ve alt olmak üzere iki ucu (extremitas superior ve extremitas inferior) vardır. Funiculus spermaticus margo posterior'a tutunur. Epididymis margo posterior'un dış kısmı boyunca yer alır. Testisin arka dış yüzüne yapışmıştır.

Capsula testicularis :

Testis'in örtüleri dıştan içe doğru ;

1. Deri (Scrotum)
2. Tunica dartos: Bu katmanı genel vücut örtüsüne göre isimlendirebilmek için m.dartos ve fascia superficialis membranöz tabakası (Colles Fasyası) olarak iki tabakaya ayırınlar vardır.
3. Fascia spermatica externa
4. Fascia spermatica ve m.cremaster
5. Fascia spermatica interna
6. Tunica vaginalis testis :
 - a. Lamina parietalis (periorchium)
 - b. Lamina visceralis (epiorchium)
7. Tunica albuginea
8. Tunica vasculosa

Testis bu tabakalardan tunica vaginalis, tunica albuginea, tunica vasculosa ile sarılmıştır. Tunica vaginalis'in parietal yaprağı (periorchium) ile visseral yaprağı (epiorchium) arasında kapiller bir aralık vardır. Son üç tabakaya capsula testicularis denir. Buna göre testis epiorchium, tunica albuginea ve tunica vasculosa ile sarılmıştır. Testis kapsülü spontan kasılmalar yapar. Capsula testicularis'in kontraktıl oluşu, testis kanal sisteminin pompalanması için gerekli olabilir. Böylece spermatozoa'ların iletilmesi kolaylaşır.

Testis'in Histolojik yapısı (Parenchyma testis) : Testis lobulus'larının parankim dokusunu üreme hücrelerini yapan ve tubuli seminiferi contorti denilen testis kanalcıkları yapar. Septula testislerden ayrılan bağ dokusu uzantıları lobulusların içine sokularak ince bir tabaka halinde kanalcıkların çevresini sararlar. Bağ dokusu içinde sarı pigment granürleri içeren interstitiel hücreler (ara hücreler) bulunur. Bir testis'te 200-300 kadar lobulus testis ve her lobulusta 3-4 kanalcık bulunur. Bu kanalcığın uzunluğu 70-80 cm, çapı 0.1-0.3 mm'dir (Şekil 1).

Çok kıvrımlı olan tubuli seminiferi contorti lobulusların tepelerine yaklaştıkça kıvrımları azalır ve birleşerek bir testiste 20-30 kadar olan tubuli seminiferi recti'yi oluştururlar. Bu kanalların lümenleri daha geniş olup 0.5 mm çapındadır. Tubuli seminiferi recti, mediastinum testisin fibröz dokusuna sokulur. Burada kanalların birbiri ile anastomozu sonucu bir ağ ortaya çıkar. Bu ağa rete testis denir. Rete testisi yapan kanalcıklar mediastinum testisin üst ucunda ductuli efferentes testis adı verilen ve sayıları 12-30 kadar olan kanallar ile devam ederler. Ductuli efferentes testis ise tunica albuginea'yı delerek testislerden epididymis'e geçerler. Tubuli seminiferi contortiler dışarda bazal membran ile çevrilidirler. Bu bazal lamina üzerinde 4 ile 8 sıra hücreden ibaret germinal epitel hücre yer alır. Germinal epitel iki çeşit hücre ihtive eder (Şekil 2).

1 . Destek hücreleri (Sertoli Hücreleri) : Bunlar uzun hücreler olup germinal epitel boyunca uzanırlar. Bunların nucleusları soluk, nucleolusları ise koyu boyanır. Bu sayede spermatogenetik hücrelerinden ayırt edilebilir. Bu hücreler toksik ajanlara karşı dayanıklıdır. Sertoli hücreleri spermatitlerin korunmasında rol oynayan embriyonik gelişim sırasında müller kanallarının gerilmesini harekete geçiren bir glikoprotein yapısında anti-müllerion hormonu yaparlar. Sertoli hücrelerinin tabanları geniş olup bazal lamina üzerine otururlar (Şekil 3).

2. Germ Hücreleri (Spermatogenetik Hücreler) : Spermatogonia A en çok görülen spermatogonia' dır. Bazal lamina üzerine otururlar çekirdekleri koyu boyanır. Daha sonra mitoz bölünme ile çoğalıp spermatogonia B' ye dönüşürler. Spermatogonia B' ler Spermatogenezisin devamını sağlarlar. Bu döneme üreme ve çoğalma dönemi denir. Puberteye kadar seminifer tubullerde spermatogonia B ve sertoli hücreleri görülür. Spermatogonia B' ler birinci ve ikinci mayoz bölünmeyi geçirip primer spermatositlere dönüşürler. Histolojik kesitlerde en büyük spermatogenetik hücreler primer spermatositlerdir. Primer spermatositler daha sonra mayoz bölünme ile bölünerek sekonder spermatositleri oluştururlar. Sekonder spermatositlerin ömürleri kısa oluşu nedeniyle histolojik kesilerde görünmeleri zordur. Sekonder spermatositlerde spermatit'lere dönüşür. Spermatitlerde spermatozoa'lara dönüşür. Yani 4 spermatitten bir spermatozoa oluşur. Spermatozoa oluşumu olgunlaşma safhasında meydana gelir. Bu olaya spermiohistogenezis denir. Bu olay yaklaşık 1,5 saat sürmektedir. Daha sonra erkek genital bezlerinin salgıları bu yapıya katılarak spermiumlar harekete geçerler ve dakikada 2-3 mm yol alabilirler. Spermatogenezis olayı yaklaşık 3 hafta sürer ancak ductus epididymis içinde daima depo halinde spermium bulunur. Spermatogenezis yaşlılık ile birlikte azalır. Normal olarak 1cc' de 100.000.000 sperm bulunur. Oluşan spermiumlar haploid kromozom içerir. Bu haploid kromozomun 22 tanesi otozomal 1 tanesinde cinsiyet kromozomudur. Spermatogeneziste çoğalma ve üreme bazaldan lümene doğrudur. Sertoli hücrelerinde olgunlaşmalarını tamamlayan ve daha sonra lümene akan spermiumların dışarı atılım yolu şöyledir: Tubuli recti, rete testis, ductuli efferentes, ductus epididymis, ampulla ductus deferens, ductus deferens, ductus ejaculatorius ve ürethra'dır. Spermium prostat bezi vesicula seminalis ve glandula bulbo ürethra'lisin salgılarıyla karışarak sperma adı verdiğimiz meni oluşur. Ancak

menin içindeki spermium oranı %10'dur. Geri kalan % 90 ise bu bezlerin salgısı ve epitel dokusudur. Menideki spermiumların cansız oluşuna nekrosperm adı verilir. Menide spermium bulunmayışına azospermi denir ve hyaluronide enzimi hiç bulunmaz. Koitusta normal olarak boşalan sperm miktarı 3-3,5 cc kadardır. Yaklaşık olarak bu da 200-600.000.000 arasında değişir. Ancak 1cc' de 20.000.000 az sperm varsa fekondasyon için yeterli değildir. Buna da oligosperm adı verilir.

Testisin interstitiel hücreleri (Leydig hücreleri) tubuli seminiferiler arasında doku içinde çeşitli hücreler, damar ve sinirler ile birlikte bulunurlar.

Leydig hücrelerinin 70 yaşına kadar etkili olduğu gösterilmiştir. Genel olarak intersitiel hücrelerde testesteron ile birlikte, östrojen gibi etkili olan östradiol salgılanır. Leydig hücreleri, hypofiz ön lobundan salgılanan interstitiel hücreleri stimule eden hormon (ICSH - LH' nin bezleri) tarafından denetlenir. Kriptorşidizm' de testisler inguinal kanalda yer alır. Daha sıcak bir ortamda ise testislerdeki spermatogenezis olayı ortadan kalkar. Fakat leydig hücreleri ortamdaki etkilenmediği için hormonal düzen normaldir. Erkeklik belirtilerini sağlayan hormonlar (Androgenler) erkek eklenti bezlerinin (prostat, vesicula seminalis, gl. bulbo ürethra' lisin) büyümesini ve çalışmalarını sağladığı gibi ; sekonder cinsiyet belirtilerinin yani, yüz, koltuk altı, pubis kıllarının büyümesi, larinks ve paranasal sinus'ların genişlemesi, iskelet kaslarının özel gelişmeleri gibi özelliklerin ortaya çıkmasını da sağlarlar. Hipofiz ön lobu hormonlarından folikül stimulan hormon (FSH) testiste spermatogenezisi aktive eder.

Şekil 1. Küçük büyütmede, gelişimini tamamlamamış insan testisinin görünümü.

Şekil 2. Testis (Orchis) ; Epididymis; Ductus deferens ve testisin bölmeleri.

Şekil 3. Seminifer tubul ve intersitisiyel doku yapısını gösteren bir diagram.



GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza Wistar - albino türü ratların çiftleştirilmeye alınması ile başladı. Çiftleşmenin olabilmesi için oda sıcaklığında erkek ve dişi ratlar özel hazırlanan kafeslere alındı. Çiftleşme periyodu dikkatli bir şekilde izlendi. Vaginal bölgeden simirler alınarak hamileliğin olup olmadığına bakıldı. Hamile olan 12 adet rat çalışmamız için ayrıldı. Hamile ratlar 2 gruba ayrıldı. Her grupta 6 hamile rat kullanıldı.

1. grup kontrol grubu olarak kullanıldı ve ratlar diğer grupla aynı ortamda beslendi. 2. gruptaki 6 hamile rata ise hamileliğin 1. gününden doğuma kadar her gün 0.5 cc %96'lık ethanol ile 0.5 cc serum fizyolojik karıştırılarak intraperitoneal olarak enjekte edildi. Deney süresince ratlar pelet yem ve musluk suyu ile beslendi.

Doğumun birinci günü erkek ve dişi ratlar birbirlerinden ayrılarak, ağırlıkları tek tek ölçüldü. Daha sonra erkek yavru ratlar ether inhalasyonu ile öldürülerek testisleri alındı. Testislerin ağırlıkları da tek tek ölçülerek kaydedildi. Alınan testisler %10'lık formaldehitte fikse edildi. Sonra alkol ve xylol'den geçirilerek parafin bloklarına alındı. Bu bloklardan 4-6 mikron kalınlığında kesitler alınarak hematoxilen-eosin (H.E) ve hematoxilen-vangisson (H.V) boya ile boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda incelenerek testis dokusunda alkole bağlı olarak oluşan histopatolojik değişiklikler saptanarak fotomikroskop ile fotoğrafları çekildi.

Deney ve kontrol grubu ratların vücut ve testis ağırlıklarının aritmetik ortalaması (\bar{X}) bulundu. Vücut ağırlığı ile testis ağırlığı arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarabilmek için her iki grubun korelasyon katsayısı (r) saptandı. Bulunan bu istatistiki değerler "Student t" testi ile analiz edilerek vücut ve testis ağırlıkları arasındaki ilişkinin anlamlı olup olmadığı ortaya çıkarıldı. Ayrıca deney ve kontrol

gurubu ratların vücut ve testis ağırlıklarına regresyon analizi yapıp, varyasyon analizi uygulanarak değerlendirildi.



BULGULAR

Deney ve kontrol grubu ratların vücut ağırlığı ile testis ağırlıklarının aritmetik ortalamaları karşılaştırılıp “**student t**” testi ile kontrol edildiğinde, alkol verilen ratların yavrularının vücut ve testis ağırlıklarının etanol’ün etkisi ile azaldığı saptandı. Bu durum istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ($P<0.001$) (Tablo 1).

	Kontrol Grubu (n=14)		Alkol Grubu (n=17)		t	P
	x	SD	x	SD		
Vücut Ağırlığı (g)	8.53	0.23	5.45	05	22.49	$p<0.001$
Testis ağırlığı (g)	0.025	0.003	0.011	0.001	17.01	$p<0.001$

Tablo I : Kontrol ve alkol grubu yavru ratlara ait vucut ve testis ağırlıkları.

Kontrol grubuna ait ratların yavrularının vucut ve testis ağırlığı arasındaki korelasyon katsayısı $r=0.40$ olarak bulundu. Bu durum kontrol grubundaki yavru ratların vücut ve testis ağırlıkları arasındaki ilişkinin zayıf olduğunu gösterir ($t=1.51$). İstatistiksel olarak da önemsizdir ($P>0.05$).

Deney grubunda alkol verilen ratların yavrularının vücut ve testis ağırlığı arasındaki korelasyon katsayısı $r=0.62$ olarak saptandı. Bu durum deney grubu yavru ratların vücut ve testis ağırlıkları arasındaki ilişkinin kuvvetli olduğunu gösterir ($t=3.06$). Bu ilişki istatistiksel olarak da anlamlıdır ($P<0.01$).

Kontrol grubu yavru ratlara ait vücut ve testis ağırlıkları varyans analizi ile karşılaştırıldığında aralarında fonksiyonel bir ilişkinin olmadığı saptandı ($F=2.28$). Bu ilişki istatistiksel olarak da anlamsızdı ($P>0.05$) (Tablo 2).

Varyans Kaynağı	SD	KT	KO	F	P
Regresyon	1	0.11	0.11	2.28	p<0.05
Hata	12	0.57	0.048	-----	-----
Genel	13	0.68	-----	-----	-----

Tablo II : Kontrol grubu yavru ratlara ait vücut ve testis ağırlıklarını gösteren varyans analiz tablosu.

Deney grubu yavru ratlara ait vücut ve testis ağırlıkları karşılaştırıldığında aralarında önemli bir fonksiyonel ilişkinin olduğu saptandı (F=9.35). Bu ilişki istatistiksel olarak da anlamlıydı (P<0.01) (Tablo 3).

Varyans Kaynağı	SD	KT	KO	F	P
Regresyon	1	1.55	1.55	9.35	p<0.01
Hata	15	2.49	0.17	-----	-----
Genel	16	4.04	-----	-----	-----

Tablo III : Alkol grubu yavru ratlara ait vücut ve testis ağırlıklarını gösteren varyans analiz tablosu.

Histolojik bulgulara gelince;

Kontrol grubu yavru ratlardan alınan testislerin ışık mikroskobu ile incelemesinde; testislerin dıştan ince kollagen liflerle fibroblastlardan oluşmuş bir bağ doku kapsülü ile sarılmış olduğunu gördük (Resim 1). Testis doku parankimasını oluşturan seminifer tubuller ise düzensiz bir şekilde dağılmıştı. Her seminifer tubulde spermatogenetik hücrelerde mitotik aktivitenin fazla olduğu görüldü. Bu aktivite bazal

laminadan lümeneye doğru idi. Bu hızlı bölünmenin sonucunda da seminifer tubul lümenlerinin kapalı olduğu saptandı (Resim 2). Seminifer tubullerdeki spermatogenetik hücrelerin vakuolümsü görüntülerinin rutin boyamalara bağlı olarak ortaya çıkan stoplazma çözülmesi ile ilgili olduğu düşünöldü. Seminifer tubuller arasında yer alan bağ doku alanı içindeki leydig hücrelerinde belirgin bir gruplaşmanın olduğu göröldü (Resim 3). Leydig hücrelerinin dış kısmında yer alan bağ dokusunda neonatal büyümeye bağlı olarak hızlı bir aktivasyonun şekillendiği saptandı (Resim 4).



**Resim 1 . Kontrol grubu testis dokusuna ait normal bir görünüm
(Hematotoxilen-Eosin orijinal büyütme x 16).**

Resim 2. Kontrol grubu seminifer tubullerdeki mitotik aktivitenin fazla oluşu ve seminifer tubullerin kapalı olduğunu gösteren bir görünüm (Hematoxilen-Eosin orijinal büyütme x 41).

Resim 3. Kontrol grubu leydig hücrelerinde belirgin bir gruplaşmanın olduğunu gösteren bir görünüm (Hematoxilen-Eosin orijinal büyütme x 41).

Resim 4. Kontrol gurubu bağ doku aktivasyonun fazla oluşunu gösteren bir görünüm (Hematoxilen-Vangisson orijinal büyütme x 41).

Deney grubu yavru ratlardan alınan testislerin ışık mikroskobunda incelemesinde; kontrol grubunun tersine testislerin etrafını saran tunica albuginea tabakasındaki bağ dokusunda bir kalınlaşmanın olduğu ve hücrelerde aktivasyon şekillendiği saptandı (Resim 5). Testis parankim dokusunu oluşturan seminifer tubullerdeki spermatogenetik hücrelerde yer yer dejenerasyon ve stoplazmalarında belirgin bir silikleşmenin olduğu grld (Resim 6). Ethanol'n etkisi ile spermatogenetik hücrelerde oluşan dejenarasyona bağlı olarak seminifer tubuller içinde dökülmüş hücrelerde belirgin bir artış olduğu ve spermatogenetik hücrelerin arasında yer alan sertoli hücrelerinin bazal kısmında lipid akümülasyonu saptandı (Resim 7). Kontrol grubunda grdmz stoplazma üzülmesi ile ortaya çıkan vakuolümsü görüntüler deney grubu ratlarda daha da artmıştı (Resim 7). Seminifer tubullerdeki spermatogenetik hücreler alkolden etkilenirken bu tubullerin içinde yer yer serbest halde dağılmış eritrositler grld (Resim 8). Bu tubullerin arasını dolduran bağ dokusunda leydig hclerenin grup halindeki görünümleri kontrol

grubunda olduğu gibi aynı idi. Bağ dokusunda serbest halde dağılmış eritrositlerin varlığı dikkat çekiciydi (Resim 9, 10).

Resim 5 . Deney grubu tunica albuginea tabakasında kalınlaşma ve bağ doku hücrelerinde bir aktivasyonun olduğunu gösteren bir görünüm. (Hematoxilen - Eosin orijinal büyütme x 16)

Resim 6. Deney grubu spermatik hücrelerde dejenerasyon ve hücre stoplazmasında silikleşmenin olduğunu gösteren bir görünüm (Hematoxilen-Eosin orijinal büyütme x41).

Resim 7. Deney grubunda vakuolümsü görünümelerde artış ve spermatik hücrelerin lümene dökülmesini gösteren bir görünüm (Hematoxilen-Vangisson orijinal büyütme x 41).

Resim 8. Deney grubu seminifer tubul içinde serbest halde dağılmış eritrositlerin olduğunu gösteren bir görünüm (Hematoxilen-Eosin orijinal büyütme x 41).

Resim 9. Deney grubu seminifer tubuller arasındaki bağ dokusunda serbest halde dağılmış eritrositler ve leydig hücrelerinde bir gruplaşmanın olduğunu gösteren bir görünüm (hematoxilen - Eosin orijinal büyütme x 41).

Resim 10. Deney grubu seminifer tubullerin arasını dolduran bağdoku artışını gösteren bir görünüm (Hematoxilen-Vangisson x41).

TARTIŞMA

Alkolün testisler üzerine yapmış olduğu toksik etkiler araştırmacılar tarafından incelenmiştir (11,13,16). İnsanlarda ve deney hayvanlarında alkole bağlı olarak testis ağırlıklarında, spermatogenetik hücrelerde, sertoli hücrelerinde ve leydig hücrelerinde birçok histopatolojik değişiklikler olduğu bildirilmiştir (8,9).

Abel ve arkadaşları ethanol'ün ratlarda prenatal gelişim üzerine etkisini fötal alkol sendromu ile açıklamışlardır. Çalışmalarında postnatal ölümlerin, testis ve ağırlığındaki azalmanın, fötal alkol sendromu ile açıklanacağını belirtmişlerdir (11).

Orth sertoli hücrelerinin spermatogenezis olayından sorumlu olduğunu fertilitenin bu sayede sağlandığını yapılan bir çalışmada ethanol'ün direkt yada indirekt olarak spermatogenetik hücreler ve sertoli hücreleri üzerinde yoğunlaştığını göstermiştir (20). Olgun ratlarda ethanol uygulaması sonucunda testislerdeki seminifer tubullerde yer alan spermatogenetik hücrelerde lipid akümüülasyonunun görüldüğü ve bu akümüülasyonun önemli ölçüde sertoli hücrelerinin bazal kısmında yer aldığı gösterilmiştir (2,13). Bizde çalışmamızda spermatogenetik hücreler arasında yer alan sertoli hücrelerinin bazal kısmında lipid akümüülasyonunun olduğunu tespit ettik. **Weinberg**'de ratlarda yaptığı bir çalışmada alkole bağlı olarak sertoli ve germ hücrelerinde meydana gelen dejenerasyonun lipid akümüülasyonu ile açıklanabileceğini belirtip, seminifer tubul çapında azalma ve tubul içinde yer alan germ hücre sayısında da bir azalmanın olduğunu belirtmişlerdir (13). Bizim bulgularımız da bu çalışmayı desteklemektedir.

Nie ve arkadaşları olgun ratlarda ethanol'ün etkisine bağlı olarak spermatogenetik hücreler arasında yer alan sertoli hücrelerinde görülen lipid akümüülasyonunun, yeni doğan yavruların spermatogenetik ve sertoli hücreleri ile

karşılaştırıldığında benzerlik olduğunu saptamışlardır (2). **Hoek** ve arkadaşları hücrelerin ethanol'e adaptasyonunu araştırırken hepatositlerin direkt olarak dejenerasyonuna uğradığını ve gözle görünür bir lipid akümülyasyonunun olduğunu gözlemişlerdir (1).

İnsanlarda ve deney hayvanlarında hamilelik döneminde alkol tüketimi sırasında fütal ve neonatal büyümenin gerilediğini bir çok çalışma göstermiştir. Fütal Alkol Sendromuna bağılı olarak doğan yavruların testis ve vücut ağırlıklarını kontrol grubu ratların testis ve vücut ağırlıklarında belirgin bir düzeyde düşük olduğu ve bunun anlamlı olduğu saptanmıştır. **Van Thiel** ve arkadaşları alkol grubu testis ağırlıklarının kontrol grubu testis ağırlıklarından yaklaşık % 50 daha az olduğunu tespit etmişlerdir (22). Akut ve kronik ethanol uygulaması sonucunda plazmadaki LH, testesteron düzeyinin azalması ve testis total ağırlıklarında değişimin olduğu bir çok araştırmacı tarafından ortak görüş olarak kabul edilmiştir (3,10,15). Bizde çalışmamızda deney grubu yavru ratların vücut ve testis ağırlıklarının kontrol grubu yavru ratların vücut ve testis ağırlıklarından daha düşük olduğunu istatistiksel olarak belirledik ($P<0.001$). **Mc Givern** ve arkadaşları ratlarda fütal dönemde alınan alkole bağılı olarak testesteron seviyesinin azaldığını bu sebepten dolayı postnatal dönemde uzun süreli feminizasyon, demaskulizasyon ve seksüel davranışlarda değişiklikler gözlemişlerdir (9).

Van Thiel ve arkadaşları alkole bağılı olarak testis içinde direkt etkilenen alanın Leydig hücreleri olduğunu testesteron seviyesinde azalmanın meydana geldiğini buna bağılı olarak hypogonadizm'in şekillendiğini öne sürmüşlerdir (22). **Mc Givern** ve arkadaşları ethanol'ün testisler üzerine toksik etkilerini incelerken postnatal periyod döneminde Leydig hücrelerinin sayısında kontrol grubuna göre bir azalma ve bu deney hayvanlarının seminifer tubüllerinde vakuolümsü görünlere

rastlamışlardır (9). Çalışmamızda ise seminifer tubullerin arasında yer alan bağ dokusundaki Leydig hücrelerinin gruplaşma odaklarında bir azalmanın olmadığını gözledik. Bununla birlikte kontrol grubunda az görülen vakuolümsü yapının etanol'ün etkisine bağlı olarak bol miktarda artmış olduğunu ve seminifer tubullerin arasını dolduran bağ doku hücrelerinde de bir artış tespit ettik. Hamilelik döneminde etanol'e maruz bırakılan ratların yavrularının kontrol grubundan elde edilen ratlara göre vücut ve testis ağırlıklarında önemli bir azalma, seminifer tubullerdeki spermatogenetik hücrelerde dejenerasyon, lipid akümülyasyon, vakuolümsü görünüm, sertoli hücrelerinde meydana gelen değişiklik ve bağ dokudaki artış etanol'ün etkisine bağlı olarak geliştiğinin bir sonucu olarak değerlendirdik.

Ö Z E T

Çalışmamızda hamilelik süresince ethanol verilen ratların erkek yavrularının neonatal dönemde ratların vücut ve testis ağırlığına etkisi ile testis dokusunda meydana gelen histolojik değişiklikleri incelemeyi amaçladık. Bu çalışmada deney grubu olarak 6, kontrol grubu olarakta 6 hamile rat kullanıldı. Hamilelik boyunca ratlara 0.5cc %96'lık ethanol ile 0.5cc serum fizyolojik karışımı intraperitoneal olarak enjekte edildi. Hamilelik boyunca ratlar pelet yem ve su ile beslendi.

Doğumun ilk günü erkek yavrular ether inhalasyonu ile öldürülerek, testisleri alınarak incelendi. Deney ve Kontrol grubu yavru ratların vücut ve testis ağırlıkları karşılaştırılarak **student t** testi ile analiz edildi. Kontrol ve alkol grubu ratların vücut ve testis ağırlığı arasındaki ilişki gösteren **Pearson** korelasyon katsayısı bulunup varyans analizi ile değerlendirildi. Deney grubu yavru ratların vücut ve testis ağırlıkları kontrol grubu yavru ratlara göre daha düşük olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P<0.001$). Kontrol grubuna ait vücut ve testis ağırlığı arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon modelinin önemli olmadığı görüldü ($r=0.40$, $P>0.05$) ($F=2.28$; $P>0.05$). Deney grubu ratların vücut ve testis ağırlığı arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon modelinin önemli olduğu tespit edildi ($r=0.62$, $P<0.01$) ($F=2.28$, $P<0.01$).

Mikroskopik incelemede ise, hamilelik döneminde alınan ethanol'ün rat testislerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler; seminifer tubuller arasındaki spermatogenetik hücrelerde dejenerasyon, leydig hücrelerinin sayısında azalma, lipid akümüasyonu, vakuolümsü görünüm, sertoli hücrelerinde değişiklik ve bağ doku artışı olarak saptandı.

S U M M A R Y

In this study, We aimed at investigating the effect of ethanol given during pregnancy on weights and body testes of young rats in the neonatal period as well as histopathologic changer occurring in their testes tissue.

In the study, 6 pregnant rats as control and 6 pregnant rats as ethanol group were used. During pregnancy, The rats were injected intraperitonally with 0.5 cc ethanol of 96 % and 0.5 cc serum physiologic mixture. In this period, they were fed with pelet feed and drinking water.

The male young rats were killed with ether inhalation at the first they, after then testes of rats were taken and examined. In addition, body and testes weights of young rats in control and experiment group were discussed analyzed by **student t** test ($P < 0.001$). **Pearson** Correlation coefficient, which shows the relationship between testes weights of rats in control and experiment groups, was found and evaluated by variance analysis. Statistically, body and testes weights of rats in ethanol group were significantly lower than those in control group ($P < 0.001$). Regression model which shows the relationship between body and testes weights of rats in control group was not significant ($r = 0.40$, $P > 0.05$) ($F = 2.28$; $P > 0.005$). Yet, It was also determined that the regression model, which shows the relationship between body and testes weights of rats in experiment group was significant ($P < 0.001$).

As a microscopic researchments, We can enumerate the histologic changes in testes weights of rats in ethanol taken during pregnancy as follows; deeneration in spermatogenetic cells among seminifer tubuls, decrease in the number of leydig

cells, lipid accumulation, vacuolar appearance, change in sertoli cells and increase in connective tissue.



KAYNAKLAR

- 1-HOEK, J.B. , TARASCHÍ, T.F. : Cellular adaptation to ethanol. TIBS 13. , 30(4):269-274, 1989
- 2-NIE, Y. , STUBBS, C.D. , WILLIAMS, B.W. , RUBİN, E. : Ethanol Causes Decreased Partitioning into Biological Membranes without Changes in Lipid Order. Archives of Biochemistry and Biophysics. , 268(1):349-359, 1989.
- 3-MORRIS, D.L. , HARMS, P.G. , PETERSEN, H.D. , Mc ARTHUR, N.H : LHRH and LH in Peripubertal Female Rats Following Prenatal and/or Postnatal Ethanol Exposure. Life Sciences. , 44(3):1165-1171, 1989.
- 4-EMANUELA, M.A. , TENTLER, J. , REDA, D. , KIRSTEIN, L. , EMANUELE, N.V. , LAWRENCE, A.M. : In-vivo effect of ethanol on release of LH -releasing hormone and LH in rats. Journal of Endocrinology. , 121(2):37-41, 1989.
- 5-SUN, E.L. , CHARLES, J.F. : Proliferative Activity in the Rat Epididymis During Postnatal Development. The Anatomical Record. , 203(4):273-284, 1982.
- 6-PADMANABHAN, R. , HAMEED, M.S : Effects of acute doses of ethanol administered at pre-implantation stages on fetal development in the mouse. Drug and Alcohol Dependence. , 22(8):91-100, 1988.
- 7-CUMMINGS, A.M : Evaluation of the effects of methanol during early pregnancy in the rat. Toxicology., 179(3) : 205-214, 1993.
- 8-CORBIER, P. , KERDELHUE, B. , PICON, R. , ROFFI, J. : Changes in Testicular Weight and Serum Gonadotropin and testosterone Levels before , during, and after Birth in the Perinatal Rat. Endocrinology. , 103(6) : 205-214, 1978.

- 9-Mc GIVERN,R.F. ,RAUM,,W.J. ,HANDA,R.J. ,SOKOL,R.Z. :Comparasion of Two Weeks Versus One Week of Gonadal Organ Weights, Sperm Count, and Onset of Puberty. *Neurotoxicology and Teratology.* , 14(7) : 351-358, 1992.
- 10-ABEL,E.L. :Paternal Alcohol Consumption:Effects of Age of Testing and Duration of Paternal Drinking in Mice. *Teratology.* , 40(11) : 467-474, 1989.
- 11-ABEL,E.L. ,DINTCHEEF,B.A. :Effects of Prenatal Alcohol Exposure on Growth and Development in Rats. *The journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* , 207(14) : 916-921, 1978.
- 12-VAN THIEL,D.H. ,GAVALER,J.S. ,COOB,C.F. ,SHERINS,R.J. ,LESTER,R. Alcohol-Induced Testicular Atrophy in the Adult Male Rat. *Endocrinology.* , 105(21) : 888-895, 1979.
- 13-WEINBERG,J. ,VOGL,A.W. :Effects of Ethanol Consumption on the Morphology of the Rat Seminiferous Epithelium. *Journal of Andrology.* ,Vol.9, No.4, july/August 1988.
- 14-WOO,N.D. ,PERSAUD,T.V.N. :Rat Embryogenesis Following Exposure to Alcohol and Nicotine. *Acta Anatomica.* , 131(9) : 122-126, 1988.
- 15-SALONEN,L. ,ERIKSSON,C.J.P. :Penetration of Ethanol into the Male Reproductive Tract. *Alcolism.* , 13(6) : 746-751, 1989.
- 16-CICERO,T.J. ,ADAMS,M.L. ,O'CONNOR,L. ,NOCK,B. ,MEYER,E.R. ,WOZNIAK,D. :Influence of Chronic Alcohol Administration on Representative Indices of Puberty and Sexual Maturation in Male Rats and the Devolepment of Their Progeny. *The journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* , 255(2) : 707-714, 1990.
- 17-LEESON,T.S. :Smooth Muscle Cells in the Rat Testicular Capsule:A Developmental Study. *Morphology.* , 147(6) : 171-186, 1974.

- 18-PHILLIPS,D.E. ,KRAUGER,S.K :Effects of Postnatal Ethanol Exposure on Glial Cell Development in Rat Optic Nerve. *Experimental Neurology.* , 107(13) : 97-105, 1990.
- 19-LEESON,T.S. ,COOKSON,F.B. :Testicular Capsule and Its Muscle Elements. *Morphology.* , 144(9) : 237-242, 1990.
- 20-ORTH,J.M. :The Role of Follicle-Stimulating Hormone in Controlling Sertoli Cell Proliferation in Testes of Fetal Rats. *Endocrinology.* , 115(4) : 237-242, 1984.
- 21-VAN DE WIEL,J.A.G. ,DUIJF,C.M.P. ,PERTIJS,J.C.L.M. ,COPIUS PEEREBOOM-
STEGEMAN,J.H.J. BOS,R.P. :Growth and Liver morphology after long-term ethanol consumption of rats. *Laboratory Animals.* , 24(3) : 265-272, 1990.
- 22-VAN THIEL,D.H. ,GAVALER,J.S. ,LESTER,R. ,GOODMAN,M.D. :Alcohol-Induced Testicular Atrophy. *Gastroenterology.* , 69(2) : 326-332, 1975.
- 23-Mc GIVERN,R.F. ,RAUM,W.J. ,SALIDO,E. ,REDEI,E. :Lack of Prenatal Testosterone Surge in Fetal Rats Exposed to Ethanol:Alterations in Testicular Morphology and Physiology. *Alcoholism.* , 12(2) : 243-246, 1988.
- 24-ASHAKUMARY,L. ,VIJAYAMMAL,P.L. :Additive effect of alcohol and nicotine on lipid metabolism in rats. *Indian Journal of Experimental Biology.* , 31(3) : 270-274, 1993.
- 25-Mc GIVERN,R.F. :Influence of prenatal exposure to cimetidine and alcohol on selected morphological parameters of sexual differentiation:A preliminary report. *Neurobehav Toxicol Teratol.* , 9(1) : 23-26, 1987.
- 26-WELSCH, U. : *Renkli Mikroskopik Anatomi Atlası*: 179, 1994.
- 27-PUTZ, R. , PABST, R. : *İnsan Anatomi Atlası*: 189, 1993.
- 28-JUNQUEIRA, L.C. , CARNEIRO, J. , KELLEY, R.O. : *Basic Histology* : 409, 1995.