

Cisplatin ve Radyoterapi ile Etkilenen Tavşan Testislerindeki Spermatogenezin Androjen Destek Tedavisi ile Korunması

ANDROGEN SUPPLEMENT TREATMENT FOR PRESERVATION OF SPERMATOGENESIS IN THE RABBIT TESTES AFFECTED BY CISPLATIN AND RADIOTHERAPY

Özkan POLAT*, Osman GÜL*, İsa ÖZBEY**, Cemal GÜNDOĞDU***, Yılmaz AKSOY****, Azam DEMİREL*****, Yılmaz BAYRAKTAR*****

* Yrd.Doç.Dr.Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ABD,
** Uzm.Dr.Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ABD,
*** Doç.Dr.Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD,
**** Asist.Dr.Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ABD,
***** Doç.Dr.Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ABD,
***** Prof.Dr.Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ABD, ERZURUM

ÖZET

Tavşan testisleri üzerinde kemoterapi ve radyoterapinin spermatogenezini önleyici etkilerinin testosteron destek tedavisi ile korunup korunamayacağı 24 tavşan üzerinde araştırıldı.

Tavşanlar 6 gruba ayrıldı. Kontrol grubu, cisplatin grubu, radyoterapi grubu, testosteron grubu, cisplatin ve testosteron grubu, radyoterapi ve testosteron grubu.

Cisplatin grubunda preleptoten primer spermatozoid, pakiten spermatozoid, step-7 ve step-19 sayılarında kontrol grubuna göre sırasıyla %25.5, %28.4, %52.2 ve %50.9 azalma oldu. Radyoterapi uygulanan grupta ise cisplatinden farklı olarak tip-A spermatogonyum sayısında da %36.1 oranında azalma oldu.

Testosteron destek tedavisi cisplatinin spermatogenez üzerindeki olumsuz etkisini önlerken, radyoterapi grubunda bir etkisi olmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Spermatogenez, Cisplatin, Radyoterapi, Testosteron

T Klin Tıp Bilimleri 1996, 16:430-433

Kemoterapi ve radyoterapi kanser hastalarının tedavisinde giderek artan bir önem kazanmaktadır. Bu durum ile birlikte özellikle genç yaş grubunda fertilité problemi ön plana çıkmaktadır. Ürolojide gerek mesana kanserlerinin gerekse testis kanserlerinin kemoterapi re-

Geliş Tarihi: 19.09.1996

Yazışma Adresi: Dr.Özkan POLAT
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üroloji ABD,
ERZURUM

430

SUMMARY

Whether deteriorous effect of radiotherapy and chemotherapy on spermatogenesis of rabbit testes can be preserved by testosterone supplement treatment, study including 24 rabbits has been performed.

Rabbits were divided into six groups; being control group, cisplatin group, radiotherapy group, testosterone group, cisplatin and testosterone group, and radiotherapy and testosterone group.

In the cisplatin group, there was decreased number of preleptoten primer spermatocyte, paciten spermatocyte, step-7 and step-19 when compared with the control group 25.5%, 28.4%, 52.2% and 50.9%, respectively. In the radiotherapy group there was decreased number of type-A spermatogonium by 36.1%, which is different from the cisplatin group.

The testosterone supplement treatment prevented the unfavourable effects of cisplatin on spermatogenesis, but it had no preventive effect on the radiotherapy group.

Key Words: Spermatogenesis, Cisplatin, Radiotherapy, Testosterone

T Klin J Med Sci 1996, 16:430-433

jimlerinde temel ilacı oluşturan Cisplatin yanında radyoterapinin testis dokusuna olumsuz etkileri ve bu durumun nasıl önlenebileceği çeşitli araştırmalara konu olmuştur. Luteinizan hormon releasing hormon (LHRH) analoglarının germinal epiteli radyoterapi ve cisplatin karşı koruduğu bildirilmiştir (1,2). Buna karşılık ratlarda yapılan bir çalışmada tek doz radyoterapinin spermatogenez üzerindeki etkisi androjen destek tedavisi ile önlenememiştir (3).

Biz bu eksperimental çalışmamızda, tavşanlara uygulanan radyoterapi ve cisplatin spermatogenez üzerindeki etkisini ve eksojen androjen desteği ile spermatogenezin korunup korunamayacağını araştırdık.

T Klin Tıp Bilimleri 1996, 16

MATERYEL VE METOD

Hayvanlar

Deneyde kullanılan erkek tavşanlar bölgesel çiftliklerden temin edildi. Hepsinin bakımı aynı standart ortamda yapıldı. Oniki saat gündüz ve 12 saat gece ortamında tutuldular. Su ve sebze ile beslendiler.

Deneyin Düzenlenmesi

Toplam 24 tavşan dörder tavşanlık 6 gruba ayrıldı.

Kontrol Grubu (Grup 1): Tavşanların vücut ağırlığı belirlenerek 0.1 ml/100 gr hesabıyla haftada üç kez (Pazartesi, Çarşamba, Cuma günleri) fıstık yağı 15 gün süre ile subkutan verildi.

Cisplatin Grubu (Grup 2): Tek doz cisplatin 8 mg/kg şeklinde intraperitoneal olarak uygulandı. Bu grubun uygulaması deneyin başlangıcında yapıldı.

Radyoterapi Grubu (Grup 3): Bu gruptaki tavşanlara ise Co-60 teleterapi cihazında total olarak her bir tavşana bir defada 9 Gy (900 rad) radyoterpai uygulandı. Vücutların alt 1/3'lük kısmı uygulamaya tabi tutuldu. Bu grup da radyoterapiyi deneyin başlangıcında aldı.

Testosteron Grubu (Grup 4): Onbeş gün süre ile haftada 3 kez subkutan olarak Testosteron enanthate 240 µgr/100 gr vücut ağırlığı hesabıyla verildi. Androjen preparatı fıstık yağı içinde 2.4 mg/ml konsantrasyonu elde edilecek şekilde çözümlenerek uygulandı.

Cisplatin ve Testosteron Grubu (Grup 5): Bu gruba grup 2 ve 4'ün cisplatin ve testosteron dozları verildi. Cisplatin tek doz halinde ve deneyin ortasında (8.günde) verilirken, testosteron enanthate 15 gün süre ile haftada üç kez uygulandı.

Radyoterapi ve Testosteron Grubu (Grup 6): Grup 3 ve 4'deki radyasyon ve testosteron dozları uygulandı. Uygulama şekli 5. grup gibi yapıldı.

Onbeş gün sonunda hayvanlar yüksek doz eterle öldürüldükten sonra testisleri çıkarıldı. Bouin solüsyonunda tesbit edildi. Rutin histolojik işlemlerden sonra 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Hemotoxylin-eosine ile boyadıktan sonra ışık mikroskobunda 40x'lik objektifle incelendi.

Vawda tarafından tanımlandığı gibi (4) seminifer epitelyum siklusunda en fazla androjen bağımlı evre olan stage VII, spermatidlerin nükleer ve akrozomal değişikliklerine göre identifiye edilerek testiküler germ hücrelerin skorlaması yapıldı.

Herbir hayvanın sağ ve sol testislerinin farklı alanlarını içeren 15 ayrı kesitte inceleme yapılarak 10 tubulus içindeki sertoli (S), Tip A spermatogonium (A), preleptoten primer spermatosit (PP), pakiten spermatosit (P), step 7 spermatit (S-7) (spermiogenezis dönemindeki spermatit), step 19 spermatit (S-19) (matür spermatozoa) hücrelerinin sayımı yapıldı.

Tüm verilerin ortalama değerleri ve standart sapmaları hesaplandı. İstatistiki değerlendirme varyans analizi ile yapıldı. Gruplar arasındaki önemlilik tesbitinde Fisher PLSD testi uygulandı.

SONUÇLAR

Deney sonuçları Tablo 1 ve 2'deki özetlenmiştir. Cisplatinin testiküler germ hücre üzerindeki en önemli etkisi preleptoten primer spermatosit, pakiten spermatosit, spermiogenezis dönemindeki spermatit (step 7) ve matür spermatozoa (step 19) sayılarında oldu. İstatistik

Tablo 1. Cisplatin ve testosteron + cisplatin uygulamasından sonra germ hücre sayıları

| Grup | Germ hücre sayısı (ortalama±standart sapma) | | | | | |
|-----------------|---|------|---------|---------|----------|---------|
| | S | A | PP | P | S-7 | S-19 |
| Kontrol | 41±10 | 36±5 | 195±16 | 274±33 | 1084±107 | 541±68 |
| Testosteron | 43±8 | 36±8 | 182±28 | 278±27 | 1048±155 | 514±74 |
| Cisplatin | 38±9 | 34±9 | 146±25* | 197±34* | 519±231* | 266±79* |
| Cisplatin+Test. | 40±7 | 37±6 | 192±28 | 261±30 | 1003±99 | 529±57 |

S: Sertoli hücresi, A: Tip A spermatogonium, PP: Primer preleptoten spermatosit, P: Pakiten spermatosit,

S-7: Step 7 spermatit, S-19: Step 19 spermatit

*Kontrol grubuna göre istatistiki olarak önemli fark (Fisher PLSD testi)

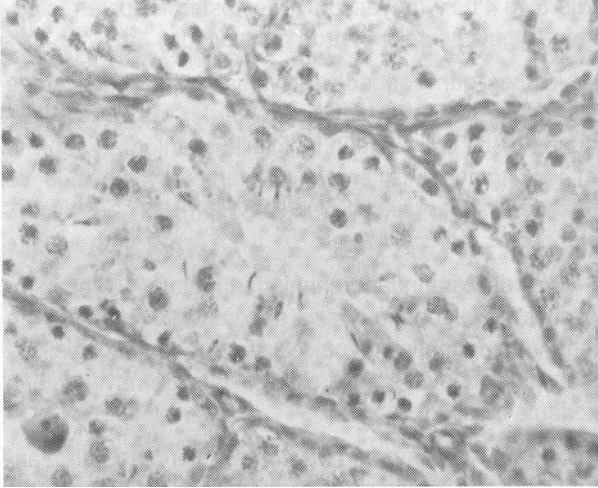
Tablo 2. Radyoterapi ve testosteron + radyoterapi uygulamasından sonra germ hücre sayıları

| Grup | Germ hücre sayısı (ortalama±standart sapma) | | | | | |
|-----------------|---|-------|---------|---------|----------|--------|
| | S | A | PP | P | S-7 | S-19 |
| Kontrol | 41±10 | 36±5 | 195±16 | 274±33 | 1084±107 | 541±68 |
| Testosteron | 43±8 | 36±8 | 182±28 | 278±27 | 1048±155 | 514±74 |
| Radyoterapi | 37±8 | 23±7* | 133±24* | 179±29* | 0* | 0* |
| Radyoter.+Test. | 40±7 | 20±6* | 125±27* | 143±28* | 0* | 0* |

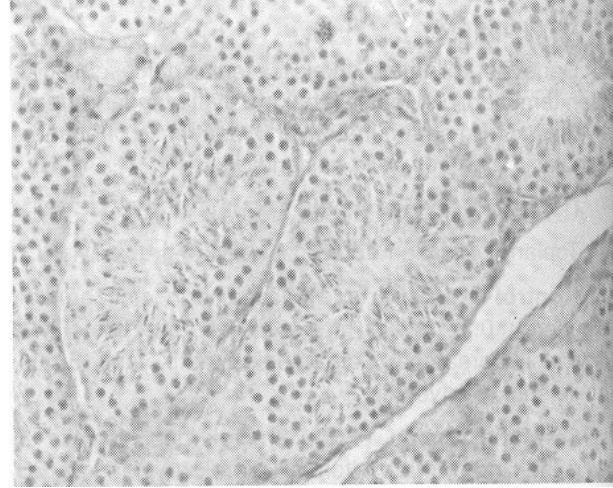
S: Sertoli hücresi, A: Tip A spermatogonium, PP: Primer preleptoten spermatosit, P: Pakiten spermatosit,

S-7: Step 7 spermatit, S-19: Step 19 spermatit

*Kontrol grubuna göre istatistiki olarak önemli fark (Fisher PLSD testi)



Şekil 1. Cisplatin uygulanan grupta Tip A spermatogoniumların ve sertoli hücrelerinin etkilenmediği görülmektedir (H&Ex400)



Şekil 2. Testosteronla desteklenen grupta germ hücreleri ve spermatogenez (H&Ex200)

tiki olarak önemli olan bu azalmalar sırasıyla %25.5, %28.4, %52.2, %50.9 olarak gerçekleşti. Sertoli hücresi ve Tip A spermatogonium üzerinde ise cisplatinin olumsuz bir etkisi gözlenmedi (Şekil 1). Çalışmanın bu aşamasında testosteronla desteklenen grupların germ hücre sayıları kontrol grubuna göre etkilenmedi (Şekil 2).

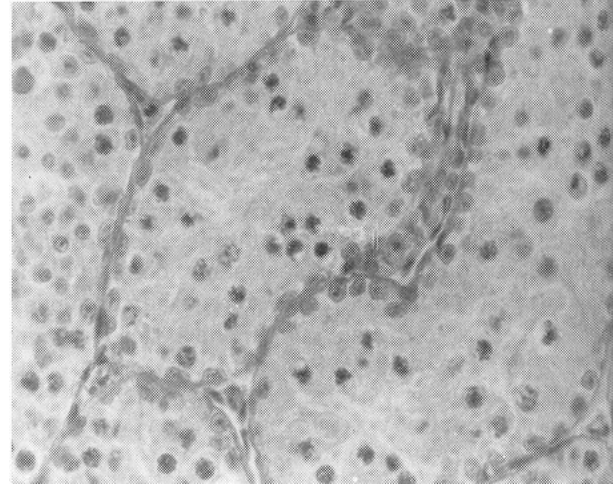
Radyoterapi uygulanan grupta ise cisplatinden farklı olarak tip A spermatogonium sayısında da %36.1 oranında azalma oldu (Şekil 3). Bu azalmalar preleptoten primer spermatosit sayısı için %31.8, pakiten spermatosit için %34.7 olurken step 7 ve step 19 sayıları sıfıra düştü. Testosteronun bu gruba olumlu bir etkisi görülmüdü.

TARTIŞMA

Cisplatinin spermiyogenez üzerindeki olumsuz etkilerinin önceden androjen verilerek önlenilebileceği rapor edilmiştir (1,2). Bu olayın temeli androjenlerin ekzojen verilmesi ile gonodotropin sekresyonunun suprese edilmesi ve leydig hücre kaynaklı androjen üretiminin ve yüksek intratestiküler androjen seviyesinin düşmesidir. Böylece androjene bağımlı spermatogenez hücreleri aktivitelerini kaybederler. Bu hareketsiz hücreler rölatif olarak sitotoksik ilaçlara dirençlidirler (4).

Spermatogenez siklusun en fazla androjene bağımlı dönemi stage VII'dir (5). Çalışmamızda stage VII döneminde testosteron ile desteklenen tavşanların germinal epitelyum hücreleri cisplatin'in olumsuz etkisinden korunmuştur. Ayrıca cisplatin stem cell spermatogonium'u (Tip A spermatogonium) etkilememiştir. Bu durum cisplatin spermatogenez üzerindeki etkisinin ilacın kesilmesinden sonra muhtemelen reversible olduğunu desteklemektedir (4).

Testisin germinal epiteli radyosensitiftir. Akut dönemde meiosis suprese eder, daha sonra germinal hücre nekrozu oluşur. Stem cell spermatogoniumlar spermatosit ve spermatitlere göre daha sensitiftir. Stem cell hücrelerinden doğan preleptoten spermatositlerin



Şekil 3. Radyasyon uygulanan ve germ hücreleri belirgin derecede azalmış gruba ait testis biyopsisi (H'Ex400)

stem cell hücreler gibi tahrip olması için 10 kat daha fazla radyasyona maruz kalmaları gerekir. Sertoli ve Leydig hücreleri ise rölatif olarak radyorezistansdır (6,7).

Sitotoksik ilaçlarda olduğu gibi, androjen desteğinin radyasyona maruz kalan testislerde spermatogenezini koruduğu tek bir köpek üzerinde yapılan çalışma ile rapor edilmiştir (1). Ancak bu durum sayı olarak tatmin edici olmaktan uzak olduğu gibi, Schlappack ve arkadaşlarının ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada testosteronun spermatogenez üzerine koruyucu etkisi görülmemiştir (3).

Çalışmamızda radyoterapi uygulanan grupta cisplatin grubundan farklı olarak tip A spermatogonium sayısında da %36.1'lik bir azalma olmuştur. Siklusun diğer hücreleri de etkilenmiş ayrıca step 7 ve 19 sayıları sıfırlanmıştır. Tip A spermatogonium sayısındaki azalma radyoterapinin spermatogenez üzerindeki etkisinin sitotoksik ilaçlara göre daha kalıcı olacağını ortaya koymak-

tadır. Step 7 ve step 19 hücrelerinin etkilenmesi için gereken radyasyon dozunun tip A spermatogonium'a göre daha fazla olması gerçeğinden hareketle bu deneyimizin daha düşük dozda radyasyon uygulanan yeni çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz. Bu grupta testosteron destek tedavisinin spermatogenezisin korunmasında bir etkisi olmamıştır.

Sonuç olarak,

1. Stem cell spermatogoniumlar etkilenmediği için cisplatinin testiküler germ hücre üzerindeki etkisi reversibldir.

2. Buna karşılık radyasyona maruz kalınması halinde, özellikle stem cell spermatogonium hücreleri etkilendiği için tahrip edici etki kalıcıdır.

3. Cisplatin uygulananlarda önceden androjen destek tedavisi verilerek spermatogenezis korunabilir.

4. Radyoterapi uygulamasında ise ekzojen androjenlerin testis üzerine koruyucu bir etkisi yoktur.

KAYNAKLAR

1. Nseyo VO, Huben RP, Klioze SS, Pontes JE. Protection of germinal epithelium with lutenizing-hormone-releasing hormone analogue. J Urol 1985; 34:187-90.
2. Vawda AI. Effect of testosterone on cisplatin-induced testicular damage. Arch Androl 1994; 32:53-7.
3. Schlappack OK, Delic JI, Harwood JR, Stanley JA. Attempted protection of spermatogenesis from single doses of gamma-irradiation in the androgen pretreated rat. Arch Androl 1987; 19:269-74.
4. Vawda AI, Davies AG. Effects of cisplatin on the mouse testis. Acta Endocrinol 1986; 112:436-41.
5. Sharpe RM, Maddocks S, Kerr JB. Cell cell interactions in the control of spermatogenesis as studied using Leydig cell destruction and testosterone replacement. Am J Anat 1990; 188:3-20.
6. Anderson RE, Berthrong M, Fajardo LF. Radiation injury In: Damjanov I, Linder J, ed. Anderson's pathology, 10th ed. St Louis: Mosby-Year Book, Inc., 1996: 1,484-512.
7. Damewood MD, Grochow LB. Prospectis for fertility after chemotherapy or radiation for neoplastic disease. Fertil Steril 1986; 45:443-59.