

L-Carnitine Uygulanan Ratların Testis Dokusunda Görülen Morfolojik ve Morfometrik Değişiklikler[¶]

MORPHOLOGIC AND MORPHOMETRIC DIFFERENCES OF TESTIS TISSUE ON L-CARNITINE TREATED RATS

Ömer COŞKUN*, Recep KUTLUBAY**, Birkan YAKAN***, Oğuz EKMEKÇİOĞLU*, Ömer ÖZTÜRK*

* Dr.,Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD,

** Yrd.Doç.Dr.,Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD,

*** Doç.Dr.,Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD, KAYSERİ

Özet

L-carnitine'in testis dokusunda oluşturduğu morfolojik ve morfometrik değişiklikleri araştırmak amacıyla 20 adet erişkin erkek sıçan kullanıldı.

On sıçandan oluşan deney grubuna ait hayvanlara 300 mg/kg/gün L-carnitine, yine 10 sıçandan oluşan kontrol grubuna ait hayvanlara da aynı hacimde serum fizyolojik üç gün boyunca oral olarak uygulandı.

Kontrol ve deney grubuna ait sıçanlardan alınan testis dokularından hazırlanan preparatlar; morfolojik ve morfometrik değerlendirmeler için ışık mikroskobu seviye-sinde incelendi.

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, deney grubuna ait testislerin seminifer tübüllerindeki mitoz geçiren spermatogonium sayısında artış görüldü. Ayrıca tübül lümenindeki ve duktus epididimisteki spermium sayısında belirgin bir artış saptandı. Yine kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, deney grubuna ait testis dokusundaki Leydig hücrelerinin sitoplazmasında granül artışı, sitoplazmanın daha parlak ve eozinofilik boyandı görüldü. Bunun yanı sıra deney grubuna ait duktus epididimisteki epitel boyunda azalma belirlendi.

Anahtar Kelimeler: L-carnitine, Testis, Rat

T Klin Tıp Bilimleri 1998, 18:236-239

Summary

Morphologic and morphometric effects of L-carnitine on testis tissue were studied using 20 adult male Wistar rats.

The rats were divided two groups, experimental and control, and each group was 10 male rats. While 300 mg/kg/day L-carnitine was given orally to experimental group, same amount 0,09% NaCl was given to control group during three days.

After three days, the testis tissues were taken from both groups and slides prepared for light microscopy. The morphologic and morphometric changes of the testis were assessed using light microscopy.

When experimental group was compared to control group; the number of spermatogonium which were mitosis phase increased. Also there were distinguishable increase in number of spermium tubul lumen and in ductus epididymidis. Furthermore, there were granuler increase in Leydig cell cytoplasm, and the cytoplasm were found more light and eosinophilic. However, there were decrease in epithelial length in ductus epididymidis of experimental group.

Key Words: L-carnitine, Testis, Rat

T Klin J Med Sci 1998, 18:236-239

Carnitine erkeklerde başlıca duktus epididimide üretilir (1-4). Bilateral kriptorşidizm veya Klinik felter sendromu gibi şiddetli testis hara-

biyeti olan hastalarda carnitine seviyeleri düşüktür (5). Oral olarak carnitine uygulanması hem kantitatif hem de kalitatif olarak sperm motilitesini ve diğer sperm parametrelerini etkileyebilir. Etkisini daha çok epidimiste gösteren carnitine motile sperm sayısını arttırarak fertilizasyon şansını yükseltmektedir (6).

Daha önceki çalışmalar genellikle azospermialı hastalarla ve duktus epididimisteki değişikliklerle ilgilidir (6-11).

Geliş Tarihi: 17.11.1997

Yazışma Adresi: Dr.Ömer COŞKUN
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji-Embriyoloji AD, KAYSERİ

[¶] Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Araştırma Derneği,
1. Ulusal Kongresinde poster olarak sunulmuştur.
30 Ekim- 2 Kasım 1997.

L-carnitine'in sperm metabolizmasında önemli bir rol oynadığına inanılır. Çünkü spermatozoa ve seminal sıvıda yüksek konsantrasyonlarda carnitine mevcuttur (1). Literatürde testis dokusunun morfolojisi ile ilgili bir çalışmaya rastlayamadık. Bu nedenle L-carnitine'in testis dokusunda oluşturabileceği morfolojik ve morfometrik değişiklikleri araştırmayı amaçladık.

Materyel ve Metod

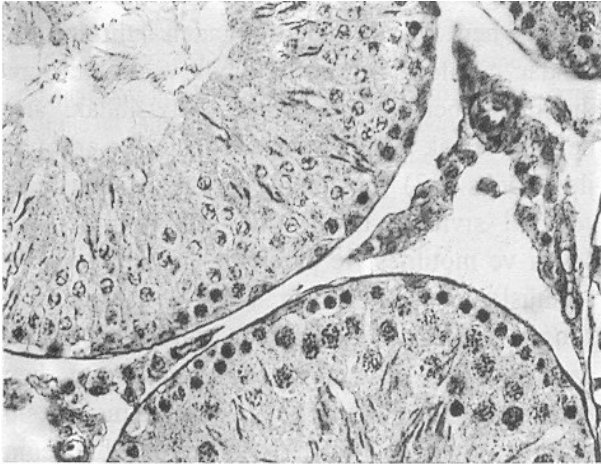
Çalışmamızda, 20 adet erişkin erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar, kontrol ve deney grubu olmak üzere 10'ar sıçandan oluşan iki gruba ayrıldı. Deney grubuna 300 mg/kg/gün L-carnitine, kontrol grubuna ise aynı miktarda serum fizyolojik üç gün boyunca oral olarak uygulandı. Dördüncü günde, her iki gruba ait hayvanların testisleri eter anestezisi altında çıkarıldı. Alınan testis dokuları rutin histolojik işlemlere tabi tutuldu. Paraffin bloklardan alınan 5-7 mikron kalınlığındaki kesitler hematoxilen-eosin ve Masson trichrome yöntemiyle boyandı ve Olympus BH-2 ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Masson trichrome yöntemiyle boyanan preparatlardan deney ve kontrol gruplarına ait her hayvanın testisinden rastgele seçilen 5'er tübüldeki bazal membrana komşu tüm spermatogoniumlar ve mitoz geçiren spermatogoniumlar sayılarak morfometrik değerlendirme yapıldı. Sonuçlar Student-t testiyle değerlendirildi.

Bulgular

1-Morfolojik Bulgular

Serum fizyolojik uygulanan kontrol grubu sıçanlardan elde ettiğimiz testis dokusuna ait tübül



Şekil 1. Kontrol grubuna ait testis dokusu. Hematoxilen-Eosin, Orijinal büyütmeye: 40X.

yapılarında; tübül duvarındaki germinal hücreler ve olgunlaşmakta olan spermatidler gözlemlendi (Şekil 1).

L-carnitine uygulandıktan sonra elde edilen tübül yapılarında ise mitoz geçiren spermatogoniumların daha fazla olduğu ve lümendeki spermium sayısının belirgin bir artış gösterdiği tespit edildi (Şekil 2).

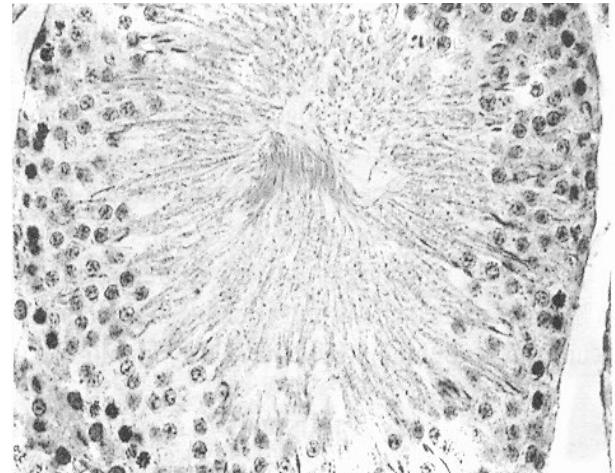
Kontrol grubuna ait seminifer tübüllerin duvarında yer alan spermatosit serisi hücrelerin daha soluk renkli görüldüğü ve ökromatik yapıda nükleuslara sahip oldukları belirlendi (Şekil 3). L-carnitine uyguladığımız gruptaki aynı hücrelerin daha koyu renkli oldukları ve nükleuslarının heterokromatik özellikte olduğu gözlemlendi (Şekil 4).

Kontrol grubu testislerinin interstisiyel bölgesinde bağ dokusu hücreleri ve Leydig hücreleri gözlemlendi (Şekil 3). Deney grubuna ait Leydig hücrelerinin sitoplazmalarında granül artışı ve daha parlak ve daha eozinofilik boyanma saptandı (Şekil 4).

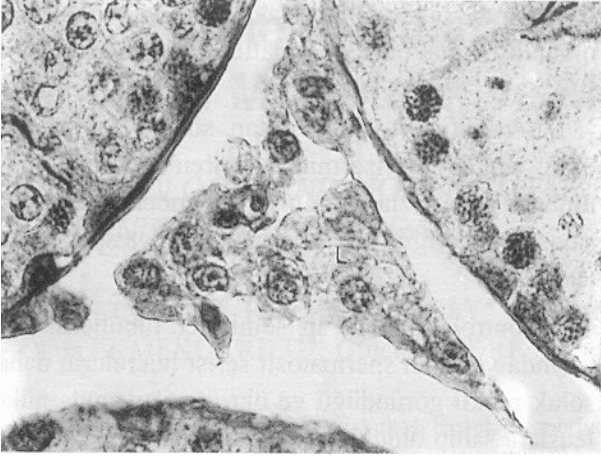
Kontrol grubu duktus epididimislerine ait görüntülerde; epitel yüksekliğinin normal olduğu ve lümeninde bir miktar spermium görüldü (Şekil 5). L-carnitine uygulanan sıçanların duktus epididimislerindeki epitelin daha kısa boylu olduğu ve lümenindeki spermium sayısının belirgin olarak arttığı gözlemlendi (Şekil 6).

2-Morfometrik Bulgular

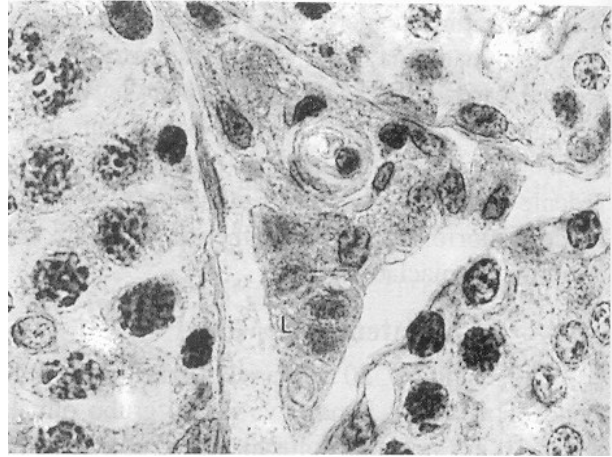
Morfometrik değerlendirme sonucunda, kontrol grubunda ortalama olarak tübül başına toplam



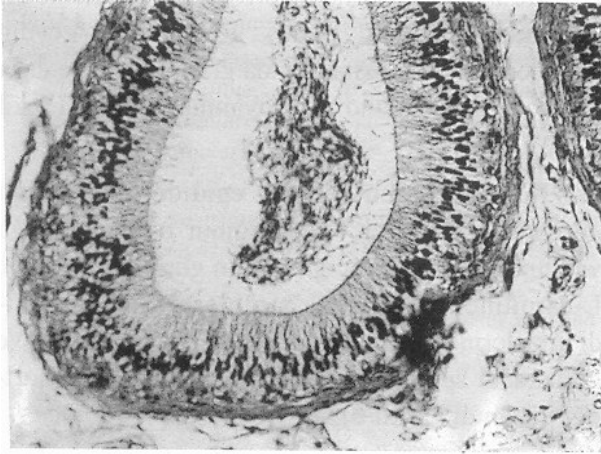
Şekil 2. Deney grubu ratlardan elde edilen testis dokusu. Hematoxilen-Eosin, Orijinal büyütmeye: 40X.



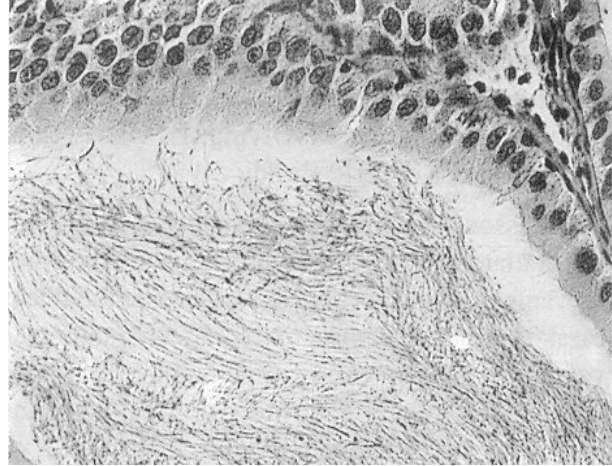
Şekil 3. Kontrol grubundaki Leydig hücreleri (L).
Hematoxylin-Eosin, Orijinal büyütme: 100X.



Şekil 4. Deney grubu Leydig hücreleri (L).
Hematoxylin-Eosin, Orijinal büyütme: 100X.



Şekil 5. Kontrol grubuna ait epididimis ve lümeninde yer alan Spermiumlar.
Masson trichrome, Orijinal büyütme: 20X.



Şekil 6. Deney grubu epididimisi ve lümenindeki spermiumlar.
Hematoxylin-Eosin, Orijinal büyütme: 40X.

62,80 adet spermatogonium sayıldı. Yine kontrol grubunda ortalama olarak tübül başına 24,60 adet (%39,18) spermatogoniumun mitoz geçirmekte olduğu belirlendi. Deney grubunda tübül başına sayılan toplam spermatogonium sayısı ortalama 75,40'dı. Bu grupta tübül başına ortalama olarak 40,50 (%53,56) spermatogoniumun mitoz geçirmekte olduğu tespit edildi.

Kontrol ve deney gruplarına ait mitoz oranları (%) istatistiksel olarak değerlendirildiğinde sonuçun anlamlı olduğu görüldü ($P < 0.01$) (Tablo 1).

Tartışma

L-carnitine'in sperm metabolizmasında önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir (1). Çalışmamızda,

L-carnitine uygulanan sıçanların testis dokusu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, hem morfolojik hem de morfometrik açıdan belirgin farklılıklar görüldü. Seminifer tübül ve duktus epididimis lümenindeki spermium sayısındaki artış belirgin olarak tespit edildi. Menchini ve ark. (12) ile Brooks (13) bu konuda yaptıkları çalışmada seminal sıvıdaki L-carnitine miktarının, sperm sayısı ve motilitesiyle paralellik gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. Yine Costa ve ark. (6) asthenozoospermia'lı hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada oral olarak L-carnitine uygulanmasının, hem kantitatif hem de kalitatif olarak sperm motilitesini ve diğer sperm parametrelerini etkileyebileceğini belirtmektedirler. Ayrıca çalışmamızın sonucunda,

L-carnitine uyguladığımız gruptaki spermatozoidlerin kontrol grubundakilerden daha aktif olması L-carnitine'in sperm yapımını hızlandırdığının bir göstergesi olabilir. Bu açıdan da bulgularımız literatür bilgileriyle paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda, kontrol grubundaki mitoz geçiren spermatogoniumlar ortalama %39,18 oranında iken, L-carnitine uygulanan grupta %53,56 oranında olması spermium sayısındaki artışı destekler nitelikteydi ($P<0,01$).

Deney grubumuzdaki interstisiyel bölgede yer alan Leydig hücrelerinin kontrol grubundakilere oranla daha belirgin sitoplazmik granüle sahip olduğu, sitoplazmalarının daha parlak ve eozinofilik boyanma gösterdiği görüldü. Sitoplazmadaki granül artışı bu hücrelerin daha fazla testosteron hormonu sentezlemekte olabileceğinin göstergesidir. Leydig hücrelerinin salgıladığı testosteron hormonunun sperm yapımını olumlu yönde etkileyeceği bilinmektedir (14,15).

Costa ve ark. (6) asthenozoospermialı hastalarla yaptıkları çalışmada, oral L-carnitine uygulanması sırasında spermium sayısının sürekli arttığını belirtmektedirler. Yapmış olduğumuz çalışmamızın sonucunda, elde ettiğimiz morfolojik ve morfometrik bulgular Costa ve arkadaşlarının bulgularıyla paralellik göstermektedir. Bu nedenle L-carnitine'in bazı infertilite vakalarında tedavi amacıyla kullanılabilirliği kanısındayız.

Ancak bu konuyla ilgili olarak daha detaylı çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- Brooks DE. Carnitine, acetylcarnitine and the activity of carnitine acetyltransferases in seminal plasma and spermatozoa of men, rams and rats. *J Reprod Fertil* 1979;56:667-73.
- Hinton BT, Setchell BP. Concentration of some organic compounds in the luminal fluid of the testis and epididymis of the rat and some other mammals. *J Androl* 1980; 1:83-7.
- Soufir JC, Marson J, Jouannet P. Free l-carnitine in human seminal plasma. *Int. Androl* 1981;4:388-90.
- Wetterauer U, Heite HJ: Carnitine in seminal fluid as parameter for epididymal function. *Andrologia* 1978; 10:203-210.
- Lewin LM, Shalev DP, Weissenberg R, Soffer Y. Carnitine and acetylcarnitines in semen from azoospermic patients. *Fertil Steril* 1981;36: 214-8.
- Costa M, Canale D, Filicori M, D'iddio S and Lenzi A. L-carnitine in idiopathic asthenozoospermia: a multicenter study. *Andrologia* 1994;26:155-9.
- Eigenman J, Bandhauer K, Tomamichel G. Seminal carnitine concentration in obstructive azoospermia. *Eur Urol* 1994;26:134-46.
- Golan R, Shalev DP, Wasserzug O, Weissenberg R and Lewin LM. influence of various substrates on the acetylcarnitine: carnitine ratio in motile and immotile human spermatozoa. *Reprod Fert* 1986;78:287-93.
- Radigue C, Es-slami S, Soufir JC. Relationship of carnitine transport across the epididymis to blood carnitine and androgens in rats. *Archives of andrology* 1996;37:27-31.
- Hutson SM, Van Dop C and Lardy HA. Metabolism of pyruvate and carnitine esters in bovine epididymal sperm mitochondria. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1977;161:345-52.
- Fourie MH, Du toit D, Bornman MS, Wolmarans I and du Plessis DJ. Epididymal markers in an andrology clinic. *Archives of Andrology* 1993;31:209-15.
- Menchini Fabris GF, Canale D, Izzo PL, Olivieri L, Bertelloni M:Free L-carnitine in human semen: its variability in different andrologic pathologies. *Fertil Steril* 1984;42:263-7.
- Brooks DE. Carnitine in the male reproductive tract and its relation to the metabolism of the epididymis and spermatozoa. In: McGarry JD, Frenkel RA, eds. *Carnitine biosynthesis, metabolism and function*. New York: Academic Press, 1980:219-35.
- Erbengi T. *Histoloji 2*. Baskı, Beta Basım, Yayım, Dağıtım AŞ, İstanbul, 1985: 177.
- Junqueira LC, Carneiro J, Kelley R. *Basic Histology*, Prentice-Hall International, 8th edition, America, 1995: 416.