

# Gebe Sıçanlara Uygulanan Sialoadenektomi ve Flutamidin Erkek Yavrularda Serum Testosteron, FSH, LH Düzeyleri İle Testis Dokusu Üzerine Etkileri<sup>1</sup>

*EFFECTS OF SIALOADENECTOMY AND FLUTAMIDE TREATMENT IN PREGNANT RATS ON THE LEVELS OF TESTOSTERONE, FSH, LH AND TESTIS IN MALE RATS*

M. Aydın KETANİ\*, Yusuf NERGİZ\*\*, Ö. Mukaddes ELİTOK\*\*\*

\* Yrd.Doç.Dr., Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD,

\*\* Prof.Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD,

\*\*\* Arş.Gör.Dr., Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıklar AD, DİYARBAKIR

## Özet

Çalışmamızın amacı, gebe hayvanlarda sialoadenektomi (maternal epidermal growth faktör eksikliği) ve antiandrojen (flutamid) uygulamasının erkek yavrularda vücut ve genital organların gelişimi, serum testosteron, Follikül Stimulan Hormon (FSH), Luteinizan Hormon (LH) düzeyleri ile testis dokusu üzerine etkilerini araştırmaktır.

Bu amaç için 40 adet erişkin dişi Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Deneysel hayvanları biri kontrol olmak üzere 4 gruba böldük: Grup-I: Kontrol (K), Grup-II: Sialoadenektomi (Sx), Grup-III: Flutamid (F), Grup-IV: Sialoadenektomi+flutamid.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney gruplarında vücut ağırlıkları, testis ve eklenti bezleri ağırlıkları düşük bulundu. Deneysel gruplarında serum hormon değerlerinden FSH ve LH değerlerinde bariz değişiklik gözlenmezken, testosteron değerlerinde artış saptandı. Testise ait preparatların mikroskopik incelenmesinde, Sx grubunda spermatosit-II seviyesinde, F grubunda spermatosit-I seviyesinde arrest durumu, Sx+F grubunda ise spermatogenetik hücre izlenmemesi ve tipik testiküler atrofi tablosu barizdi.

Sonuç olarak; gebelerde sialoadenektomi yapılarak oluşturulan maternal EGF eksikliği ve maternal flutamid uygulaması erkek yavrularda vücut ve genital organlarda gelişme geriliğine, serum testosteron düzeylerinde artışa ve testis dokusunda dejenerasyona neden olmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Sıçan, Sialoadenektomi, Flutamid, Testis, Hormon

T Klin Tıp Bilimleri 2002, 22: 1-7

## Summary

In this study our purpose is to determine the effect of sialoadenectomy (maternal epidermal growth factor deficiency) and antiandrogen (Flutamide) treatment in pregnant rats on body and reproductive organ weights, serum levels of testosterone, Follicle Stimulating Hormone (FSH), Luteinizing Hormone (LH) and testis of male rats postpartum.

Sexually mature forty female Sprague-Dawley rats were used. They were divided into four groups; Group-I: Control group, Group-II: Sialoadenectomized (Sx), Group-III: Flutamide treated (F), Group-IV: Sialoadenectomized + Flutamide treated (Sx+F).

Body and reproductive organ weights were markedly reduced in Sx, F, Sx+F groups compared with control group. LH and FSH levels were normal in all groups but circulating testosterone levels significantly increased in Sx, F, Sx+F groups.

Histological examination revealed that spermatogenesis arrest at spermatocyt-II level in Sx group, spermatogenesis arrest at spermatocyt-I level in F group, typically hypospermatogenesis and testicular atrophy in Sx+F group.

As a result, maternal epidermal growth factor deficiency performed by sialoadenectomy and maternal flutamide treatment caused retardation in the development of body and reproductive organs, increasing levels of testosterone, degenerative changes in testes in male rats postpartum.

**Key Words:** Rat, Sialoadenectomy, Flutamide, Testes, Hormone

T Klin J Med Sci 2002, 22: 1-7

Submandibular tükürük bezi Epidermal Growth Factor'ün (EGF) en önemli kaynağıdır (1,2). Bundan başka insan ve rodentlerde duodenal Brunner bezinden de salgılandığı bildirilmiştir (3,4). Submandibular tükürük bezi çıkarılan (sialoadenektomize) farelerde serum EGF düzeyinin saptanamayacak kadar düşmesi submandibular tükürük bezinin serum EGF'nin en önemli kaynağı olduğunu göstermektedir (1,2,5).

Epidermal Growth Factor molekül ağırlığı 6000 dalton olan 53 aminoasitten oluşmuş tek zincirli bir polipeptittir (6,7). Bu hormon memelilerde pekçok organ

ve dokuda mitogenezi stimule ederek hücre proliferasyonunu artırır. Böylelikle organlarda büyüme, gelişme, farklılaşma ve onarım üzerine etkilidir (1,2,5,8).

Erkek üreme sisteminde EGF'nin önemli rolü vardır. Erkek farelerin submandibular tükürük bezinde ve sindirim kanalındaki EGF konsantrasyonunun dişi farelerinkinden 10-20 kat fazla olduğu bilinmektedir (9,10). Sialoadenektomize farelerde vücut ağırlığı ve genital organ ağırlıkları ile testiküler ve epididimal sperm sayısı ve sperm motilitesinin azaldığı bildirilmiştir (1,2).

Epidermal growth factorun üretimi ve salgılanması androjenler tarafından düzenlenir (2,9,11). Bununla birlikte EGF'nin de testosteron üretimi ve serumdaki düzeyini etkilediğini gösteren çalışmalar vardır (1,12-15).

Gebelik döneminde serum konsantrasyonu artan maternal EGF'nin fötüsün androjen sekresyonunu uyardığı, erkek yavrularda fötal androjenlerin genital organların gelişimini sağladığı bildirilmektedir (10,16-18). Kurachi gebe ve laktasyondaki farelerde submandibular bez ve plazma EGF konsantrasyonlarını gebe olmayanlara göre önemli derecede yüksek bulmuştur. Aynı araştırıcı sialoadenektomize gebe ve gebe olmayan farelerin plazmalarında EGF saptayamadığını bildirmiştir (5).

Flutamid androjen reseptörleri için yarıştığı bilinen nonsteroid bir antiandrojendir. Erişkin sıçanlarda bu ilaç prostat ve vesika seminalis gibi hedef organlarda androjenlerin etkisinin azalmasına sebebiyet vermektedir. Flutamid uygulaması, sıçanlarda LH ve testosteronun plazma konsantrasyonunu artırır. Flutamidle tedavi edilen erkeklerde de benzer etkiler gözlenmiştir (19,20).

Bu çalışmanın amacı sialoadenektomize gebe sıçanlardan doğan erkek yavrularda maternal EGF eksikliği ve maternal flutamid uygulamasının vücut ve genital organ ağırlıkları, testis dokusu ve serum testosteron, FSH ve LH düzeyleri üzerine etkisini araştırmaktır.

### Materyal ve Metod

**Deney hayvanları:** Deney hayvanı olarak erişkin dişi Sprague-Dawley sıçanlar kullanıldı. Araştırmada kullanılan deney hayvanları Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi (DÜSAM)'nden temin edildi. Bu hayvanlar optimal ısı olan 23°C'de, 14 saat ışık, 10 saat karanlıkta ve nispi nem oranı %45'lik bir laboratuvar ortamında barındırıldılar. Hayvanlar pelet fare yemi ve su ad libitum beslendiler. Deney hayvanları biri kontrol olmak üzere dört gruba ayrıldı.

**Grup-1 (Kontrol (K) grubu, n:10):** Kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu gruptaki erişkin dişi sıçanlar çiftleştirildi, vajinal simir muayenesiyle gebeliğin başlangıcı belirlendi. Doğumdan sonra 22. günde erkek yavrular araştırmaya alındı.

**Grup-2 (Sialoadenektomi (Sx) grubu, n:10):** Sıçanlar sialoadenektomi operasyonundan 4 hafta sonra çiftleştirildiler. Vajinal simir muayenesiyle gebeliğin başlangıcı belirlendi. Doğumdan sonra 22. günde erkek yavrular araştırmaya alındı.

**Grup-3 (Flutamid (F) Grubu, n:10):** Sıçanlar çiftleşmeye alınarak vajinal simirin mikroskopik muayenesiyle gebeliğin 1.günü tespit edildi. Gebeliğin 11-21. günleri arasında bir antiandrojen olan flutamid (Eulexin , 250 mg tablet) günde 10 mg/100 g vücut ağırlığı

dozunda oral yolla verildi. Doğumdan sonra 22. günde erkek yavrular araştırmaya alındı.

**Grup-4 (Sialoadenektomi+Flutamid (Sx+F) Grubu, n:10):** Grup-2'de olduğu gibi sıçanlar sialoadenektomi operasyonunu müteakip dördüncü haftada çiftleştirildi, vaginal simirin mikroskopik muayenesiyle gebeliğin 1. günü tespit edildi. Gebe sıçanlara gebeliğin 11-21. günleri arasında bir antiandrojen olan flutamid (Eulexin) günde 10 mg /100 g vücut ağırlığı dozunda oral yolla verildi. Doğumdan sonra 22. günde erkek yavrular araştırmaya alındı.

**Cerrahi prosedür:** Sialoadenektomi yapılacak hayvanlar ketamin HCl (Ketalar, 50 mg/ml, Parke-Davis) 10 mg/100 g vücut ağırlığı + xylazine (Rompun %2, Bayer) 0.8 mg/100 g vücut ağırlığı dozunda intraperitoneal uygulaması ile genel anesteziye alındı. Boynun transversal insizyonu yapılarak, glandula submandibularisleri total olarak ekstirpe edildi (21).

Erkek yavrular 60 günlük olduğunda yüksek dozda ketamin enjeksiyonu ile sakrifiye edildiler. Enjeksiyondan hemen sonra intrakardiyak yolla kan örnekleri alındı (21).

**Vücut ve üreme organları ağırlıkları ölçümü:** Erkek yavruların vücut ağırlıkları, testis, prostat, glandula vesicularis, glandula bulbouretralis ve böbrek ağırlıkları 10<sup>-4</sup> hassasiyetindeki "Mettler AJ 150" marka dijital terazi ile ölçüldü.

**Serum testosteron, FSH ve LH ölçümü:** Testosteron, FSH ve LH düzeyleri kan serumunda RIA metoduyla ölçüldü.

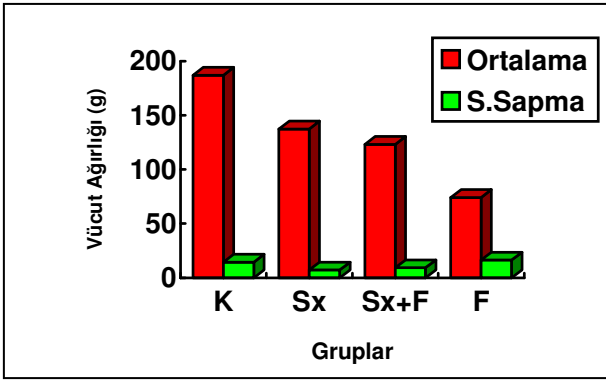
**Histolojik muayene:** Testis doku örnekleri %10'luk nötral formalinde fikse edildi. Bilinen histolojik yöntemlerle elde edilen 4-5 µm kalınlığındaki parafin kesitleri Hematoksilen Eozin (H-E), Hematoksilen-Van Gieson, Masson tripple ve Periodic acid Schiff (PAS) ile boyanarak ışık mikroskobu altında değerlendirildi ve mikrofotografı alındı (22).

**İstatistiksel analiz:** Serum testosteron, FSH ve LH düzeylerine ait veriler Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Vücut ağırlığı ve organ ağırlıklarına ait veriler varyans analizi ile değerlendirildi.

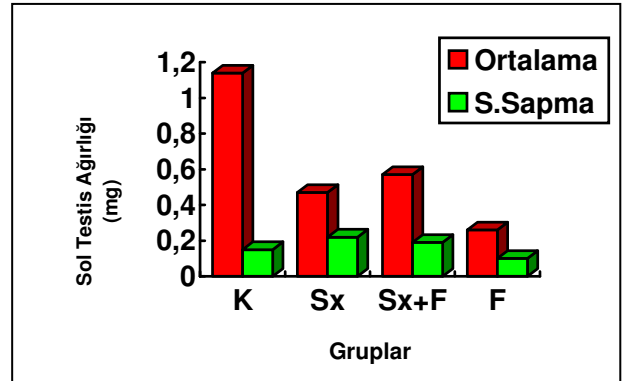
### Bulgular

**Vücut ağırlığı ve genital organ ağırlıkları:** Deney sonunda vücut ağırlıkları, testis, erkek eklenti bezlerinden prostat, vezika seminalis, glandula bulbouretralis ve böbrek ağırlıklarına ait veriler değerlendirilerek aşağıdaki grafikler elde edildi.

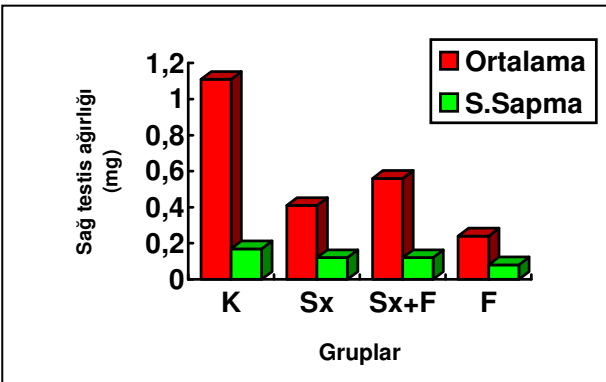
Kontrol grubuna oranla Sx, Sx+F, F gruplarına ait denek hayvanlarının vücut ağırlıklarında azalma gözlemlendi. Ancak vücut ağırlıklarında en fazla düşüşün olduğu grup Flutamide (F) grubudur. İstatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur (P<0.001) (Grafik-1).



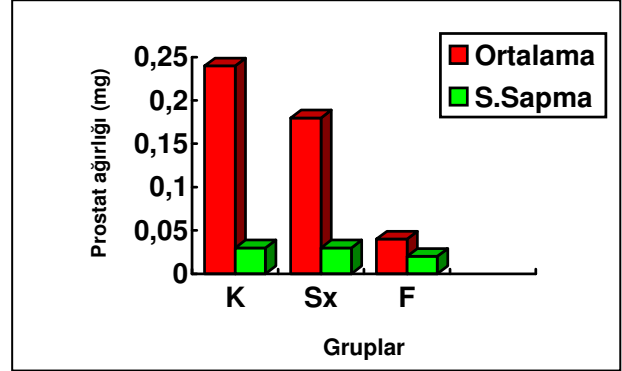
Grafik 1. Vücut ağırlıklarındaki değişimler



Grafik 2. Sol testis ağırlıklarındaki değişimler



Grafik 3. Sağ testis ağırlıklarındaki değişimler



Grafik 4. Prostat bezi ağırlıklarındaki değişimler

Sağ ve sol testis ağırlıklarında kontrol grubuna oranla Sx, Sx+F, F gruplarında önemli düşüş gözlemlendi. Testis ağırlıklarında en fazla düşüşün olduğu grup Flutamide grubudur. Testis ağırlıklarında gruplar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır ( $P<0.001$ ) (Grafik-2,3).

Sx+F grubunda prostat, vesica seminalis ve glandula bulbouretralis bezleri atrofik bir durumdaydı. Bunlar istatistiksel değerlendirmeye alınmadı. Kontrol grubuna oranla Sx ve F grubuna ait prostat, vesica seminalis ve glandula bulbouretralis ağırlıklarında istatistiksel olarak önemli bir düşme gözlemlendi. Eklenti bezleri ağırlıklarında en bariz azalma flutamide grubunda tesbit edilmiştir ( $P<0.001$ ) (Grafik-4,5,6).

Kontrol grubuna oranla Sx, Sx+F, F grupları arasında sağ ve sol böbrek ağırlıklarında herhangi bir değişiklik meydana gelmemiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı ( $P>0.05$ ).

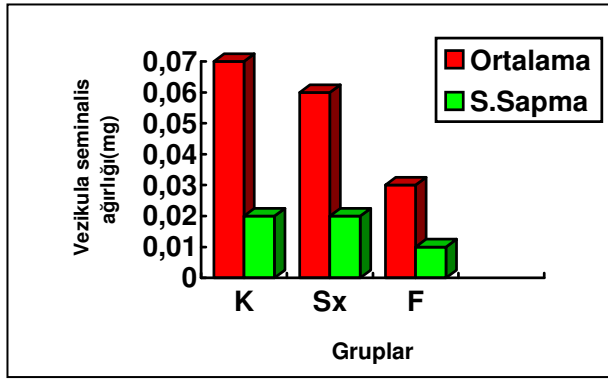
**Serum Hormon Değerleri:** Serum testosteron, FSH ve LH değerleri Tablo 1'de sunulmuştur.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Sx, F ve Sx+F gruplarında testosteron düzeylerinde istatistiksel olarak önemli artış bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Follikül stimulan hormon ve Luteinizan hormon düzeylerinde kontrol grubu

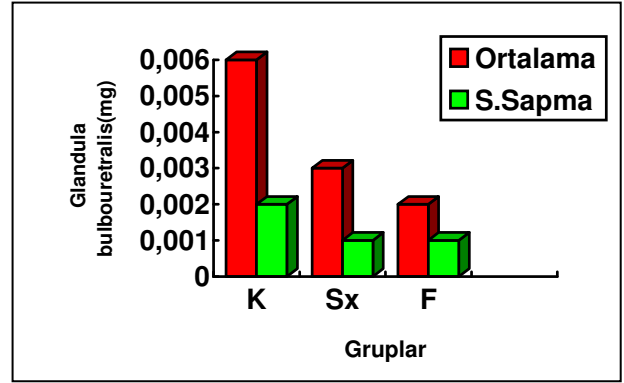
ile deney grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ( $P>0.05$ ).

**Histopatolojik Bulgular:** Kontrol grubuna ait testis kesitlerinde, seminifer tübüller, interstisyel dokuda Leydig hücreleri ve spermatogenetik seri hücreleri izlendi, herhangi bir patolojiye rastlanmadı (Resim 1).

Sialoadenektomi grubuna ait testis kesitlerinde, testis dokusunun santral kısmında belirgin ödem, tübüllerde atrofi ve Leydig hücrelerinde azalma, bazı tübüllerde spermatogenetik hücrelerde azalma, Sertoli hücrelerinde artış, spermatosit-II ihtiva edecek şekilde arrest durum izlendi. Bu gruba ait bazı deneklerin testis kesitlerinde, Leydig hücrelerinde belirgin bir proliferasyon ve interstisyel alandaki damarlarda konjesyon gözlemlendi (Resim 2). İnterstisyel ödem alanında hücresel unsur az olmasına karşın, tek tük fibroblast ve kollajen iplikçikler gözlemlendi. Testise ait perifer tübüllerde interstisyel ödem ve atrofi bulunmazken, hiposelülarite, germinal hücrelerde dizilim bozukluğu izlenirken, spermatosit-II seviyesinde arrest tespit edildi. Bu gruba ait testis kesitlerinin hiçbirinde spermatozoa'ya rastlanmadı. Seminifer tübüllerin bazal laminalarında herhangi bir kalınlaşma



Grafik 5. Vezika seminalis ağırlıklarındaki değişimler



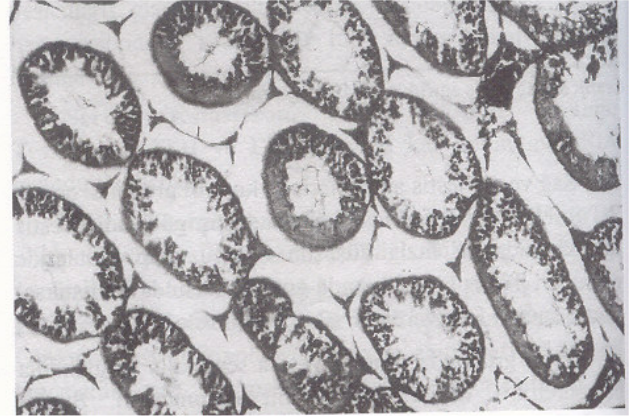
Grafik 6. Glandula bulbourethralis ağırlıklarındaki değişimler

Tablo 1. Serum testosteron, FSH ve LH değerleri

Gruplar	Testosteron(ng/ml)	FSH(ng/ml)	LH(ng/ml)
K	5.06 ± 1.93	1.04 ± 0.15	1.18 ± 0.26
Sx	7.48 ± 3.76	0.86 ± 0.44	1.12 ± 0.24
F	9.64 ± 1.63	1.16 ± 0.8	1.4 ± 0.26
Sx+F	9.4 ± 1.14	1.08 ± 0.31	1.34 ± 0.24



**Resim 1.** Kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tubullerin bazal laminası üzerine yerleşik spermatogenetik seri hücrelerinin tüm kademeleri, spermium (S), İnterstisyel alanda Leydig hücreleri (L) ve tek tük kollajen iplikçikler (K) izlenmektedir (H-E, Orijinal büyütme X82).



**Resim 2.** Sialoadenektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tubullerde atrofi, dejeneratif değişiklikler (D) ve interstisyel ödem (I), damarda konjesyon (K), ödem alanında iğsi hücreler (fibroblastlar ve kollajen iplikçikler) (çift ok) izlenmektedir (Masson tripple, Orijinal büyütme X41).

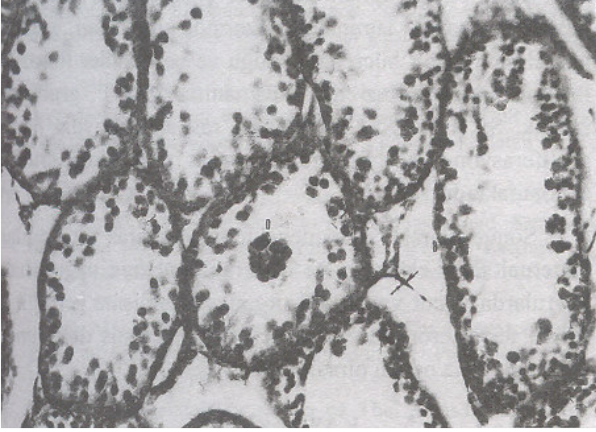
gözlenmedi.

Flutamid grubuna ait testis kesitlerinde, testisin santral bölgesinde interstisyel ödem, seminifer tübüllerde atrofi, germinal hücrelerde deskuamasyon sonucu tübül lümenlerinde hücre grupları görüldü. Spermatogenetik hücrelerde hiposelülarite, Sertoli hücrelerinde artış ve Spermatozit-I seviyesinde arrest ve Leydig hücre proliferasyonu izlendi. Seminifer tübüllerin bazal laminalarında kalınlaşmaya rastlanmadı (Resim 3).

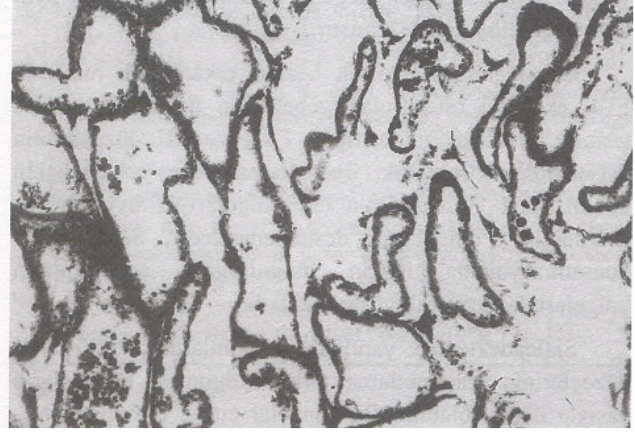
Sialoadenektomi+flutamid grubuna ait testis kesitlerinde, ileri derecede interstisyel ödem, tubuluslarda şekil bozukluğu ve atrofi, tübüllerin çoğunluğunun germinal epitel ve Sertoli hücrelerinden yoksun olması dikkat çekiciydi. Leydig hücre proliferasyonu ile seminifer tübül bazal laminalarında kalınlaşma gözlenirken bazı tübüllerde sadece spermatogonallara rastlandı (Resim 4).

### Tartışma

Liu (1), farelerde submandibular tükürük bezi, erkek eklenti bezleri, testis, karaciğer, böbrek ve serumda EGF



**Resim 3.** Flutamide grubuna ait testis kesiti. Germinal epitelde dejenerasyon ve tübül lümenlerinde deskuamasyon (D), tübül bazal laminasının normal görünümü (B) ve interstisyel ödem ( çift ok ) izlenmektedir (PAS , Orijinal büyütm X41).



**Resim 4.** Sialoadenektomi + flutamide grubuna ait testis kesiti. Sadece spermatogonia (S) içeren tübüllerin yanında Leydig hücre proliferasyonu (L), interstisyel ödem (tek ok) izlenmektedir (Hematoksilen-Van-Giesson, Orijinal büyütm X 41).

konsantrasyonlarını ölçmüş, submandibular tükürük bezinin diğer dokulara oranla yaklaşık 40 kat fazla EGF içerdiğini saptamıştır. Aynı araştırmacı sialoadenektomi yapılan hayvanlarda serum EGF düzeyinin saptanamayacak düzeye düştüğünü bildirmiştir.

Gebelik döneminde EGF'nin serum konsantrasyonunun arttığı bulunmuştur (5). Gebeliğin 11. gününde farelerde serum EGF konsantrasyonu pik noktaya ulaşır, bu dönem fetal gonadın androjen sekresyonu yaptığı döneme denk düşer. Yapılan çalışmalarda plasentanın EGF reseptörleri yönünden çok zengin olduğu, EGF reseptörlerinin stimülasyonu ile plasental gonadotropinlerin salınımının arttığı gözlenmiştir. Plasental gonadotropinler fetal androjen sekresyonunu artırır. Artan fetal androjenler fütüsün vücut gelişimini ve erkek genital organların gelişimini sağlar (10,16-18).

Tsutsumi (2) sialoadenektomi uygulanan farelerde testis ve epididimis ağırlıkları ile epididimal sperm miktarının önemli ölçüde düştüğünü bildirmiştir. Liu (1) sialoadenektomi yapılan farelerde vücut ağırlığı, testis ve eklenti bezleri ağırlıklarının düşük bulunduğunu, sialoadenektomize hayvanlara dışardan EGF verilmesi ile bu bulguların kontrol grubuna ait bulgulara yaklaştığını ifade etmektedir.

Çalışmamızda tükürük bezleri çıkartılmış annelerden doğan yavrularda vücut ağırlıkları ile testis ve eklenti bezleri ağırlıklarının düşük bulunması araştırmacıların bulgularını desteklemektedir.

Çalışmamızda flutamid ve sialoadenektomi+flutamid uyguladığımız gruplarda vücut ağırlığı ile genital organ ağırlıklarını düşük bulmamız, tek başına flutamid uygulanan grupta bu düşüşün en fazla olması flutamidin antiandrojenik etkilerini bir kez daha ortaya koymaktadır.

Liu (1) flutamid verilen hayvanlarda adı geçen organ ağırlıklarında önemli düşüş saptadığını bildirmektedir. Cain (23) gebelik döneminde flutamid verilen hayvanlardan doğan yavrularda testis ve epididimis anomalileri geliştiğini gözlemiştir.

Flutamid uygulamasının vücut ve genital organ ağırlıklarına etkilerine ilişkin sonuçlarımız bu konudaki diğer çalışmalarını desteklemektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda (1) olduğu gibi sialoadenektomi, flutamid ve sialoadenektomi+flutamid uygulanan hayvanlarda böbrek ağırlıklarında bir değişiklik gözlenmemesi sialoadenektomi ve flutamidin etkilerinin daha çok genital organlara spesifik olduğunu düşündürmektedir.

Epidermal growth faktörün üretimi ve salgılanması androjenler tarafından düzenlenir (2,9,11,14) Erkek farelerin submandibular tükürük bezi ve sindirim kanalındaki EGF konsantrasyonunun dişi farelerinkinden 20 kat fazla olduğu bilinmektedir (24). Erkek fare ve siçanların tükürük bezi EGF salgılayan hücreler ve tübüller bakımından dişilerinkinden daha zengindir. (14,25,26). Gubbits (14), erkek farelerin submandibular tükürük bezindeki EGF-mRNA düzeyinin dişilerinkine oranla 16 kat fazla olduğunu dişilere testosteron verilmesiyle EGF-mRNA miktarının erkeklerinkiyle aynı seviyeye geldiğini bildirmiştir. Bunun yanında EGF'nin de testosteron üretimi ve serum konsantrasyonunu etkilediğini gösteren çalışmalar vardır: Dışardan verilen EGF'nin Leydig hücre kültürlerinde testosteron üretimini düzenlediği saptanmıştır (12,13,15). Tsutsumi (2), sialoadenektomize erişkin farelerde serum testosteron ve FSH düzeylerinde önemli değişiklik gözlemediğini bildirirken Liu (1), peripubertal yaşa veya puberteye henüz erişmiş olan farelerde sialoadenektomi sonunda intratestiküler ve serum testosteron düzeylerinin arttığını, serum LH düzeyinin

azaldığını, serum FSH düzeyinin ise etkilenmediğini ifade etmiştir. Araştırmacı (1) sialoadenektomize hayvanlara EGF verilmesiyle adı geçen değerlerin kontrol grubuyla aynı düzeye geldiğini ifade etmiştir.

Çalışmamızda tükürük bezleri çıkartılarak maternal EGF eksikliği oluşturulan gebelerden doğan yavrularda testosteron düzeyinin arttığını FSH ve LH düzeylerinin değişmediğini saptadık. Testosteron düzeylerine ilişkin bulgularımız Tsutsumi'nin (2) bulgularıyla uyumsuzken Liu'nun (1) bulgularını desteklemektedir. Serum FSH konsantrasyonuna ilişkin bulgularımız araştırmacıların bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Sialoadektemi yapılan hayvanlarda testosteron düzeylerinin araştırmacılarca farklı bulunması hayvanların yaşıyla ilişkili olabilir. Bu sonuçlar cinsel erginliğe geçiş yaşında ve hatta fetal hayatta oluşturulan EGF eksikliğinin serum testosteron düzeyini arttırabildiğini düşündürmektedir.

Sialoadenektomi+flutamid ve flutamid gruplarında da testosteron düzeylerinde önemli artış bulunmuştur. Bu gruplarda FSH ve LH düzeyleri değişmemiştir.

Liu (1) flutamid verdiği hayvanlarda serum testosteron düzeyinin değişmediğini, FSH ve LH konsantrasyonlarının arttığını bulmuştur. Araştırmacı bu durumu flutamidle oluşturduğu antiandrojenik etkinin bir yansıması şeklinde değerlendirmektedir. Testosteronun androjenik etkilerinin ortadan kalkmasıyla LH ve FSH konsantrasyonları artar ve Leydig hücrelerinin testosteron üretimi uyarılır. Bizim bulgularımız Liu'nun bulgularıyla tezat oluşturmaktadır ancak testosteron üretiminin uyarılması görüşünü desteklemektedir.

Histolojik incelemelerde kontrol grubunda spermatogenetik hücrelerin tüm kademelerine rastlanmasına karşın, Sx grubunda spermatosit-II seviyesinde arrest, F grubunda spermatosit-I seviyesinde arrest, Sx+F grubunda ise seminifer tübül epitelden tamamen yoksundu. Spermatosit-I ve II seviyesindeki bu arrest durum mayozun sekteye uğradığına işaret etmektedir. Bu durum Tsutsumi ve arkadaşlarının (2) yaptıkları çalışmalarla paralellik göstermektedir. Spermatogeneziste rastlanan mayozun sekteye uğramasının maternal EGF eksikliğine bağlı olduğu düşünülmektedir (23).

Flutamide grubuna ait testis kesitlerinde spermatogenetik hücrelerde hiposelülarite, Sertoli hücrelerinde artış ve spermatosit-I seviyesinde arrest durum izlendi buna ait bulgular Resim 3'de gösterilmiştir. Sx ve F grubunun bazal laminalarında herhangi bir kalınlaşma izlenmezken Sx+F grubuna ait seminifer tübüllerin bazal laminalarında belirgin kalınlaşma görüldü. Sx+F 'de izlenen bu bazal lamina kalınlaşması daha önce yapılan çalışmalara (27) paralellik göstermesine karşın Sx

ve F gruplarına ait bulgularımız önceki çalışmalarla tezat teşkil ediyordu.

Daha önce yapılan deneysel çalışmalarda seminifer tübüllerin bazal laminaları üzerinde rastlanan yegane hücrelerin Sertoli hücreleri olduğu ve peritübüler fibrozise ilişkin bulguları biz de çalışmamızın Sx+F grubunda izledik. Sx, F ve Sx+F grubunda rastlanan Leydig hücre proliferasyonu bu gruplardaki serum testosteron artışını açıklamaktadır.

Sonuç olarak sialoadenektomi yapılarak oluşturulan maternal EGF eksikliği ve maternal flutamid uygulaması yavrularda vücut ve genital organlarda gelişme geriliğine, serum testosteron düzeylerinde artışa ve testis dokusunda dejenerasyona neden olmaktadır.

#### KAYNAKLAR

1. Liu A, Flores C, Kinkead T, Carboni A A, Menon M, Seethalakshmi L. Effects of Sialoadenectomy and Epidermal Growth Factor on Testicular Function of Sexually Mature Male Mice. *The Journal of Urology* 1994; 152 : 554-61.
2. Tsutsumi O , Kurachi H, Oka T. A Physiological Role of Epidermal Growth Factor in Male reproductive Function. *Science* 1986; 233:975-7.
3. Elder JB, William, G, Lacey E, Gregory H. Cellular localization of human urogastrome/epidermal growth factor. *Nature (London)* 1978; 271:466-7.
4. Kırkegaard P, Skov Olsen P, Nexø E, Holst JJ, Poulsen SS. Effect of vasoactive intestinal polypeptide and somatostatin on secretion of epidermal growth factor and bicarbonate from Brunner's gland. *Gut* 1984; 25:1225-9.
5. Kurachi H, Oka T. Changes in Epidermal Growth Factor Concentrations of Submandibular Gland, Plasma and Urine of Normal and Sialoadenectomized Female Mice During Various Reproductive Stages. *Journal of Endocrinology* 1985; 106 : 197-202.
6. Cohen S, Savage CR Jr. Part II: Recent studies on the chemistry and biology of epidermal growth factor. *Recent Progress in Hormone Research* 1974; 30: 551-74.
7. Cohen S. Isolation of submaxillary gland protection accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem* 1965; 237:1555.
8. Carpenter G, Cohen S. Epidermal growth factor. *Ann. Rev. Biochem.* 1979; 48: 193-216.
9. Byyny RL, Orth DN, Cohen S. Epidermal growth factor: effects of androgens and adrenergic agents. *Endocrinology* 1974; 95:776-82.
10. Cain MP, Kramer SA. Epidermal Growth Factor Reverses Antiandrogen Induced Cryptorchidism and Epididymal Development. *J Urol* 1994; 152 (2):770-5.
11. Bullock L, Barthe PL, Mowszowicz I, Orth DN, Bardin CV. The effect of progestins on submaxillary gland epidermal growth factor: demonstration of androgenic, synandrogenic and antiandrogenic actions. *Endocrinology* 1975; 97:189-95.
12. Ascoli M: Regulation of gonadotropin receptors and gonadotropin responses in a clonal strain of Leydig tumor cells by epidermal growth factor. *J Biol Chem* 1981; 256:179.
13. Ascoli M, Segaloff DL Regulation of the differential functions of Leydig tumor cells by epidermal growth factor. *Ann N Y Acad Sci* 1989; 564:99.
14. Gubits RM, Shaw PA, Gresik EW, Onetti-Muda A, Barka T. Epidermal growth factor gene expression is regulated differently in fare kidney and submandibular glands. *Endocrinology* 1986; 119:1382-7.
15. Lloyd CE, Ascoli M. On the mechanisms involved in the

- regulation of the cell surface receptors for human choriogonadotropin and fare epidermal growth factor in cultured Leydig cells. J Cell Biol 1983; 96:521.
16. Ali P, Smart JL, D'Souza SW. Epidermal Growth Factor Reseptors in Rat Placenta,Amnion and Yolk Sac: Characteristics of Specific Binding are Dependent on Gestational age. Placenta 1989; 10:589-95.
  17. MaruoT, Matsuo H, Murata K, Mochizuki M.Gestational age depende Dual Action of Epidermal Growth Factor on Human Placenta Early in Gestation. J.Clin Endocrinol Metab 1992; 75:1362-7.
  18. Morrish DW, Bhardwaj D, Dabbagh LK, Marusyk H, Siy O. Epidermal Growth Factor Induces Differentiation and Secretion of Human Chorionic Gonadotropin and Plecental Lactogen in Normal Human Placenta.J.Clin Endocrinol Metab 1987; 65:1282-90.
  19. Gilman AG, Rall TW, Nies SA, Taylor P. The Pharmacological Basis of Therapeutics , Eighth Edition, Pregamon Press, Dallas,Texas 1990, 1427-9.
  20. Jacob R. Congenital Anomalies of The Testis.In Campbell's Urology (Patric C. Walsh Edt.), Philadelphia, 6 th edition W.B. Sanders, 1992: 3 : 1543-52.
  21. Tuffer AA. Laboratory Animals: An Introduction for New Experimenters, Great Britain, 1987: 247,287-290,
  22. Reynolds G. Handbook of Histological Techniques, 2 nd edition, Department of Histopathology, 1990: London, 5-36.
  23. Cain MP, Kramer SA,Tindall DJ, Husmann DA. Alterations in Maternal Epidermal Growth Factor (EGF) Effect Testicular Descent and Epididymal Development. Pediatric Urology 1993; 43 (3):375-378.
  24. Joh T, Itoh M, Katsumi K, et al. Immunoreactive epidermal growth factor in fare digestive organs. Acta Endocrinology 1986;115: 203-10.
  25. Gresik EW, Van Der Noen H, Barka T. Epidermal growth factor-like material in rat submandibular gland. Am. J Anat 1979; 56: 83-9.
  26. Turgington RW, Males JL, Cohen S. Synthesis and storage of epitelial epidermal growth factor in submaxillary gland. Cancer Res 1971; 31: 252-6.
  27. Fray FM, Dennis WS. Epididymal Abnormalities Associated with Undescended Testis.The Journal of Urology 1979; 121: 341-3.
- 
- Geliş Tarihi:** 31.01.2001
- Yazışma Adresi:** Dr.M. Aydın KETANİ  
Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı  
21280 DİYARBAKIR
- <sup>†</sup>Makale 8-11 Eylül 1998 tarihlerinde Diyarbakır'da yapılan 4. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresinde Tebliğ olarak sunulmuştur.