

Neonatal Dönemdeki Ratlara Verilen Klomifen Sitrat'ın Erişkin Dönemde Testislerinde Yaptığı Değişiklikler

Op. Dr. Abdurrahman Önen*, Araş. Gör. Dr. Mehmet Kılınç**, Dr. Engin Deveci***

* Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı-DİYARBAKIR

** Dicle Üniversitesi Veteriner Fak. Anatomi Anabilim Dalı-DİYARBAKIR

*** Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı-DİYARBAKIR

ÖZET

Klomifen sitrat, östrojen antagonisti olan nonsteroid yapıda bir maddedir. Steril kadınlarda ovulasyonu indüklemek için klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Östrus siklusunu durdurucu, gonadotropinleri baskılayıcı etkiye sahiptir. Bu çalışmada, neonatal dönemde ratlara verilen klomifen sitrat'ın testislerin gelişimi üzerindeki etkisinin olgun dönemde devam edip etmediği araştırılmıştır. Çalışmada, yenidoğan erkek ratlar 2 gruba ayrıldı. Deney grubu ratlara (n=12) neonatal dönemin 1-5. günleri arasında her gün subkutan olarak 100 µg/kg klomifen sitrat enjekte edildi. Kontrol grubu (n=10) ratlara herhangi bir işlem yapılmadı. 60. günde ratların vücut ağırlıkları ölçüldü. Daha sonra, eter anestezisi altında ratların testisleri çıkarılarak ağırlıkları ölçüldü ve % 10'luk formaline atıldı. Rutin histolojik takiplerden sonra kesitler Hematoksilen-Eosin (H.E.) boyası ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi. Deney grubunda vücut ve testis ağırlığı ortalamaları, kontrol grubundan anlamlı derecede daha düşük bulundu (P<0.05). Çalışmamızda, 60. günde spermatik hücrelerin maturasyonunda yavaşlama, spermatogenezde bir duraklama gözlenmiştir. Sonuç olarak, klomifen sitrat'ın neonatal dönemde uygulandığında etkisinin uzun süre devam ettiği ve testislerdeki spermatogenezisi yavaşlattığı, ayrıca leydig hücrelerini etkilediği histopatolojik olarak gözlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Klomifen sitrat, yeni doğmuş sıçan, testis

SUMMARY

HISTOPATHOLOGIC CHANGES OCCURRING AT MATURITY PERIOD IN THE TESTES OF RATS TO WHOM CLOMIPHENE CITRATE WAS GIVEN AT NEONATAL PERIOD

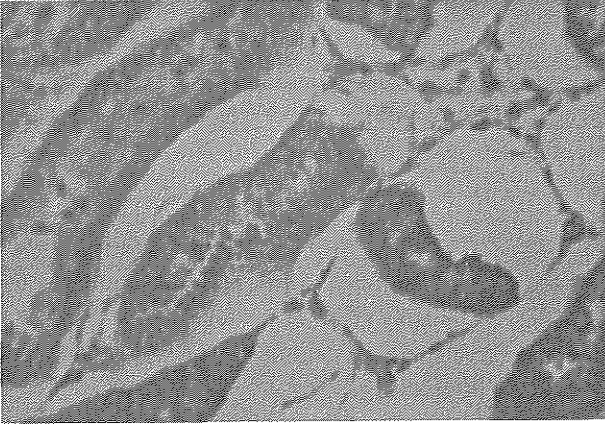
Clomiphene citrate, which has estrogen antagonist, is a non-steroid substance. Clomiphene citrate is widely used in clinic to induce ovulation in steril females. It has such effects as to inhibit ciclus and to suppress gonadotropins. In this study, we tried to investigate whether or not the effect of clomiphene citrate given to rats at neonatal period on the development of testes continued at maturity period. In the study, newborn male rats separated 2 group. Male rats in experiment group (n=12) were injected subcutaneously with 100 µg/kg clomiphene citrate the first day to fifth, while no process was performed on the rats in control group (n=10). On the 60th day after delivery, the testes of rats were resected under ether anesthesia and put into formaline of 10. Following routine histopathologic observations, the sections were evaluated histopathologically under a light microscope. In the clomiphene citrate-administered group, body and testes weight were found to be significantly lower with respect to control group (p < 0.05). In our study, a slowing down in the maturation of spermatogenic cells and an interruption in spermatogenesis were observed on the 60 day. The manifestation of spermatogenic cells in lamina in this period was evaluated as evidence that they affected spermatogenesis. In conclusion, through administration of clomiphene citrate at neonatal period, it was histologically observed that its effect lasted long and slowed down spermatogenesis in testes.

Key Words: Clomiphene citrate, neonatal rat, testes.

GİRİŞ

Klomifen sitrat, östrojen antagonisti olan nonsteroid yapıda bir maddedir (1,2). İnsan ve rat genital kanallarının gelişimi üzerine östrojenik ve teratojenik etkiye sahiptir (2,3). Klomifen sitrat, olgun laboratuvar ratlarında antiözotik, antiimplantasyon, antiembriyonik etkilere

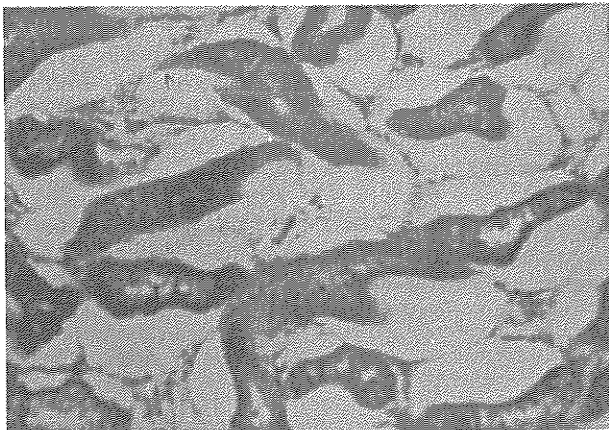
sahip ve gonadotropinleri baskılayarak östrusun durmasına neden olur (3,4). Pek çok araştırmacı, ratların üreme organları üzerine Klomifen'in değişik etkilerini tanımlamışlardır. Diğer memelilerde bu ilacın etkileri üzerine birçok çalışma vardır (5). Antiöstrojen grubu ilaçlardan tamoksifen sitrat'ın 3-6 aylık sürelerde uygulandığında ratların testislerinde, aksesuar organlarında ağırlık



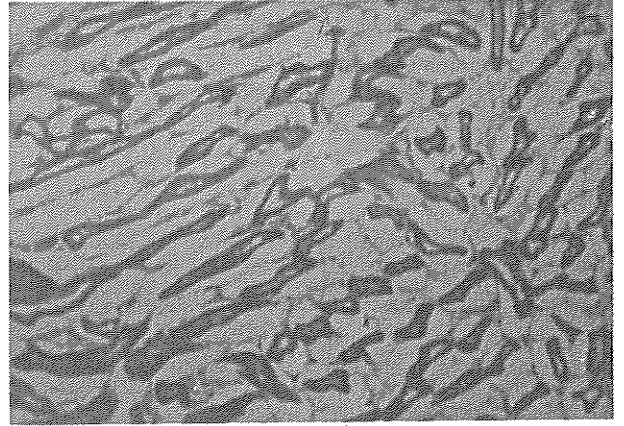
Resim 1. Spermatogenetik hücrelerin maturasyonunda yavaşlama (H.E Orijinal büyütme x 41)

ortalamasında önemli bir azalmaya yol açtığı ve spermatogenezisi baskıladığı yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (6,7). Antiöstrojen tedavisi sırasında plazmada testosteron ve LH konsantrasyonunda önemli ölçüde azalma görüldüğü halde (8) oligospermik hastalarda antiöstrojen etkisiyle plazmada LH ve testosteron konsantrasyonunun arttığı belirtilmiştir (6). Neonatal dönemde antiöstrojen verilen ratlarda, erkeklerde spermatogenezis'in gecikmesi, testislerde ve ektenti bezlerinde atrofi, dişilerde cervicovaginal epitelde adenozis'e benzer lezyonlar, uterus ve uterin bezlerin gelişiminde duraklama yanında ovariumda disgenezis saptanmıştır (4,9,10). Bir sentetik östrojen agonist-antagonisti olan Klomifen sitrat, steril kadınlarda ovulasyonu indüklemek amacıyla ve insan göğüs kanserinde östrojen reseptörlerinin pozitif tedavisi için klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır (1,4,5,9).

Bu çalışmada, neonatal dönemde ratlara verilen clomiphene citrate'ın testislerin gelişimi üzerindeki etkisi-



Resim 2. Seminer tubullerin uç kısımlarında sivilme (ok) (H.E Orijinal büyütme x 16).



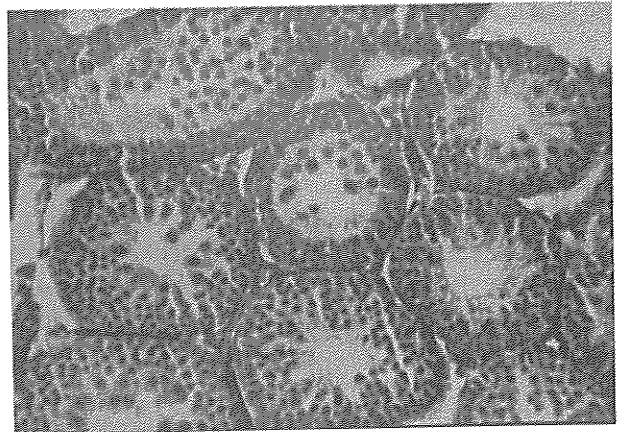
Resim 3. Intertitiel alandaki leydig hücrelerinin sayısında azalma (ok) (HE Orijinal büyütme x 41).

nin olgun dönemde devam edip etmediği araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya erkek ve dişi ratların çiftleştirilmesi ile başlandı. Hamileliğin tesbiti için vaginal plag ile vaginadan alınan smirlere bakıldı. Hamilelik kontrollü bir şekilde izlendikten sonra yenidoğan erkek ratlar ile dişi ratlar birbirinden ayrıldı. Erkek ratlara (n=12) neonatal dönemin 1. gününden 5. gününe kadar her gün subkutan olarak 100 µg/kg klomifen sitrat enjekte edildi. Kontrol grubu (n=10) ratlara herhangi bir uygulama yapılmadı. Ratlar önce anne sütü ile daha sonra pelet yem ve su ile beslendi.

Doğumdan sonra 60. günde ratlar tartılarak testisleri eter anestezisi altında rezeke edildi. Testis ağırlıkları ölçüldü. Daha sonra % 10'luk formaline alındı. Dehidratasyon ve parafin inkülüzyon işleminden sonra hazırlanan bloklardan 4-6 µ kalınlığında kesitler alındı. Rutin



Resim 4. Testis dokusunun panoramik görünümü (H.E Orijinal büyütme x 41)

histolojik takipler yapıldıktan sonra kesitler Hematoksi-len-Eosin (H.E.) boyası ile boyandı ve ışık mikroskopunda histopatolojik olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmada, deney grubu ile kontrol grubuna alt yavru ratların vücut ağırlığı ve testis ağırlığı ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P < 0.01$). Klomifen sitrat uygulanan grupta vücut ağırlığı ve testis ağırlığı, kontrol grubundan daha düşük bulundu.

Yeni doğmuş ratlara 5 gün süre ile subkutan olarak enjekte edilen klomifen sitrat'ın 60. günde testis histolojik yapısında önemli değişikliklere neden olduğu görüldü. Özellikle testis parankimasını oluşturan seminifer tubullerin birbirinden uzaklaştığı, intertitiyel alanın genişlediği gözlemlendi. Seminifer tubulleri oluşturan spermatogenetik hücrelerin maturasyonunda yavaşlama, dolayısıyla spermatogeneziste kontrol grubu testis kesitlerine göre bir gecikme görüldü (Resim 1). Seminifer tubullerin uç kısımları sivrilmiş çatal şeklinde (Resim 2) ve bu tubullerin lümenindeki sperm sayısında azalma gözlemlendi. İntertitiyel alanda hafif derecede bir ödem ayrıca leydig hücrelerinin sayısında bir azalma görüldü (Resim 3). Kontrol grubu kesitlere bakıldığında ise seminifer tubullerin yapısının ve spermatik hücrelerin maturasyonunun normal olduğu gözlemlendi (Resim 4).

TARTIŞMA

Genital kanalların gelişimi üzerine antiöstrojen grubu ilaçların etkisi, yapılan deneysel çalışmalarda vurgulanmıştır. Erkek genital organlarında yapılan deneysel çalışmalarda klomifen sitrat'ın inhibitör etkisinin kronik östrojen uygulaması sırasında ortaya çıkan etkiye benzer olduğu bildirilmiştir (11,12).

Nelson ve arkadaşları (13), yaptıkları çalışmada klomifen sitrat'ın yüksek dozda uygulanması sırasında vücut ağırlığı ve testis ağırlıklarında bir azalma gözlemlediklerini belirtmişlerdir. Ağırlıklar ile ilgili sonuçlar çalışmamız ile paralellik göstermiştir.

Yu-Chien Chou ve arkadaşları (14), neonatal dönemde uyguladıkları antiöstrojen grubu maddelerden tamoksifenin 30. ve 40. günlerde spermatogenezisi baskıladığını belirtmişlerdir.

Çalışmamızda, 60. günde spermatik hücrelerin maturasyonunda yavaşlama, spermatogeneziste bir duraklama gözlemlenmiştir. Bu dönemde sperm hücrelerinin lümen içinde görülmesi de spermatogenezisi etkilediğinin bir kanıtı olarak değerlendirildi. İntertitiyel alanda hafif bir ödem ayrıca leydig hücrelerinin sayısında azalmanın gözlenmesi klomifen sitrat'ın testosteron salınımını etkilediğinin bir belirtisi olarak düşünülmüştür.

Sonuç olarak, klomifen sitrat'ın neonatal dönemde uygulanışı ile beraber etkisinin uzun süre devam ettiği ve testislerdeki spermatogenezisi yavaşlattığı histolojik olarak gözlemlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Clark JH, Markaverich BM: The agonistic-antagonistic properties of clomiphene: a review. *Pharmacol. Ther* 15: 467, 1982.
2. Clark JH, McCormack SA: The effect of clomid and other triphenylethylene derivatives during pregnancy and the neonatal period. *J. Steroid Biochem*, 12: 47, 1980.
3. Cunha GR, Tagushi O, Namikawa R: Teratogenic effects of clomiphene, tamoxifen and diethylstilbestrol on the developing human genital tract. *Human Pathol*, 18: 1132, 1987.
4. Sahu A: Effect of clomiphene citrate on the ovary of a wild Rat, *Bandicota bengalensis*. *Acta Anat*, 129: 248, 1987.
5. Hippert LC: Induction of ovulation with clomiphene citrate. *Fertil Steril*, 31: 1, 1979.
6. Foas GL, Tindall VR, Birkett JP: The treatment of subfertile men with clomiphene citrate. *J Reprod fertil* 32: 167, 1973.
7. Schellen TM, Beek JM: The use of clomiphene treatment of male sterility. *Fertil Steril* 25: 407, 1974.
8. Roy S, Mahesh VB, Greenblatt RB: Effects of clomiphene on the physiology of reproduction in the rat. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 47: 645, 1964.
9. Jordan VC: Antiestrogenic and antitumour properties of tamoxifen in the laboratory animals. *Cancer Treat. Rep.* 30: 1409, 1982.
10. Iguchi T, Todoroki R, Yamaguchi S: Changes in the uterus and vagina of mice treated neonatally with antiestrogens. *Acta Anat*, 146, 1989.
11. Tcholakian RK, Chowdhury M, Chowdhury AK: Recovery of testicular and pituitary functions in adult male rats after cessation of short and long term estradiol treatment. *Biol Reprod*, 19: 431, 1978.
12. Wang C, Erickson GF, Hopper B, Hsueh AWJW: Direct inhibitory effect of clomiphene citrate and estradiol on testis functions in hypophysectomized rats. *Biol Reprod*, 22: 645, 1980.
13. Nelson WO, Patanelli DJ: Effect of clomiphene on testes and pituitaries of male rats. *Fred Proc*, 21: 437, 1962.
14. Chou YC: Effect of antiestrogens on adult and neonatal mouse reproductive organs. *Reproductive Toxicol*, 6: 439, 1992.