



TÜRK ÜROLOJİ DERGİSİ  
Cilt: 13, Sayı: 1, 33-41, 1987

## DIABETİK TESTİSTE LEYDİĞ VE SERTOLİ HÜCRELERİ

### LEYDIG AND SERTOLI CELLS IN TESTES OF DIABETIC MEN

AYTEKİN, Y.<sup>(\*)</sup>,

AYKAÇ, İ.<sup>(\*\*)</sup>,

BELER, B.<sup>(\*\*\*)</sup>,

ERBENĞİ, T.<sup>(\*)</sup>

### GİRİŞ

Diabetes mellitus hastalarının üreme yetersizlikleri gösterdikleri uzun zamandır bilinmektedir. Testise ait değişiklikler özellikle uygun hayvan modelleri kullanılarak gösterilmiştir<sup>(1,3,6,7,11,12,13)</sup>. Spontan diabetli ırkların araştırılması<sup>(3,18)</sup> alloxan<sup>(7)</sup> veya streptozotocin uygulaması yoluyla<sup>(1,11,12,13)</sup> pankreas hücreleri tahrip edilerek hiperglisemik hale getirilen hayvan modellerinde, testislerde ağırlık azalması, spermatogenezde bozulma, olgunlaşmamış spermatogenik hücrelerin lümeneye dökülmesi, Leydig hücre sayılarında bir azalma gibi bulgular bildirilmiştir.

Biz de daha önce yaptığımız çalışmalarda bu bulguları streptozotocin uyguladığımız deneysel diabetli sıçanlarda göstermişiz<sup>(1)</sup>.

Hipofiz-hipotalamus ve gonad üçgeni arasındaki ilişkilerin bozulmasıyla hipogonadizmin ortaya çıktığını bildiren araştırmalar çoğalmaktadır<sup>(6,9,14,17)</sup>. İmmunohistokimyasal çalışmalar ile diabetiklerde median eminens ve arkuat nüklei bölgelerinde lezyonların ortaya çıktığı ve streptozotocin ile oluşturulan diabetli sıçan modellerinde LH pozitif hücrelerin kontrollere göre dört defa fazla olduğu bulunmuştur<sup>(15)</sup>.

Araştırdığımız literatürde diabetli testislerin morfolojisinin ultrastrüktürel yönden incelenmesine çok az sayıda rastladık<sup>(3,12)</sup>. Bu nedenle literatüre katkıda bulunabilmek amacı ile diabetli insan testislerini yeniden ışık mikroskopu seviyesinde ve ince yapı yönünden incelemeyi uygun gördük.

(\*) İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı

(\*\*) M.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı

(\*\*\*) Vakıf Guraba Hastanesi I. Dahiliye Kliniği ve Diabet Polikliniği

## MATERYAL VE METODLAR

Araştırmamızın materyelini Vakıf Guraba Hastanesine yatırılan diabetli hastalardan temin edilen testis biyopsileri oluşturmuştur. Cerrahi yöntemle alınan testis biopsileri, ışık ve elektron mikroskopi gözlemlerine hazırlamak için iki ayrı işleme tabi tutulmuştur:

**Işık mikroskopu** tetkiki için Bouin fiksatifine alınan örnekler, alkol serilerinden geçirilerek dehidratasyon yapılmış ve parafin bloklar hazırlanmıştır. Parafin bloklardan alınan ince kesitler (5-6 mikron kalınlıkta) hemtoksilen-eosin boyası ile boyanmış ve Periodik Asid-Shiff (PAS) reaksiyonuna tabi tutulmuşlardır.

**Elektron mikroskop** tetkiki için alınan küçük doku parçaları tamponlu osmik asid ile tespit edildikten sonra aseton serilerinden geçirilerek dehidratasyonları yapılmış ve plastik Vestopal-W içine gömülmüşlerdir. Plastik bloklardan 600-700 Angstron kalınlığında alınan ince kesitler kontrastlama işleminden sonra Zeiss 2S ve JEOL 100 C elektron mikroskoplarında incelenerek değerlendirilmişlerdir. Testis preparatları değerlendirilirken, seminifer tubulus çapları, spermatogenesis kademeleri, peritubular doku (lamina propria) kalınlaşmaları ve interstitial dokudaki değişiklikler ile özellikle elektron mikroskopta Sertoli ve Leydig hücrelerine ait ultrastrüktür değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

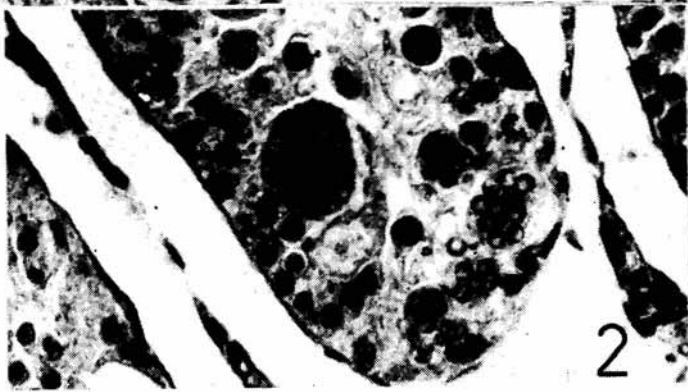
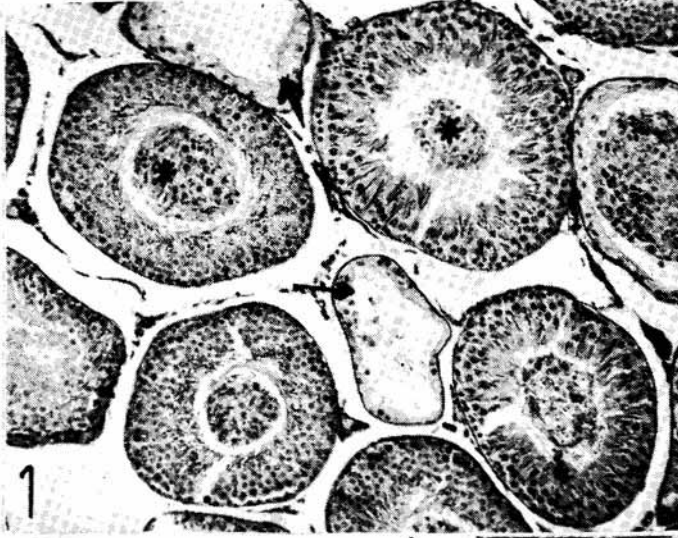
Testis biopsilerini incelerken Tablo 1'de gösterilen parametreler gözönünde bulunduruldu.

1 — Peritubular doku Myoid hücreler hücesiz tabaka	3 — Sertoli hücreleri SER Lipid
2 — Germinal hücreler Spermatogoniumlar A tipi Kök hücreleri B tipi Spermatositler Meioz bölünme Spermatidler	Kan-testis barieri 4 — Ara doku Leydig hücreleri SER Lipid Kristalloid yapılar Kapilerler

Baş ve kuyruk anomalileri  
Lümeni olgunlaşmamış hücrelerin dökülmesi

Tablo 1

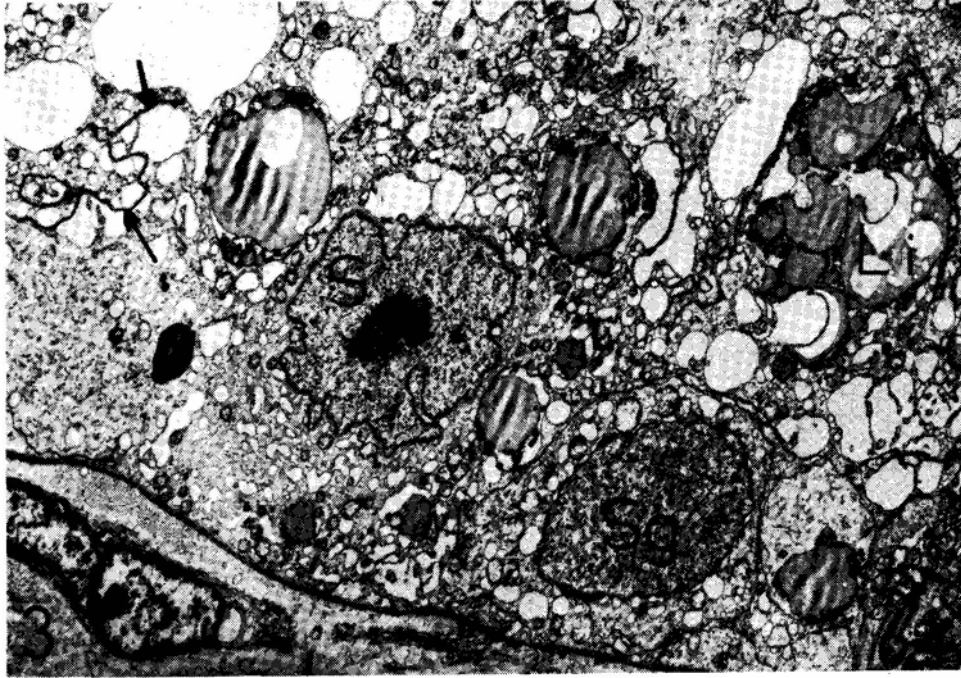
Diabetik insanlardan alınan testis biopsilerinin incelenmesinde testisin tüm elemanlarında değişik derecelerde lezyonlara rastlandı. Morfolojik bulgular diabetin yaşı, hipergliseminin durumu ve spermogram değerleri ile uyumlu olarak ortaya çıkmıştır. Özellikle elektron mikroskop incelemelerinde peritubuler doku elemanları, Sertoli hücreleri ve Leydig hücrelerinin ince strüktürü önem kazanmıştır. Oligozoospermik hastaların testislerinde bir çok vakada, literatürde "patchy degeneration" olarak isimlendirilen, yer yer spermatogenetik hücrelerin hiç bulunmadığı tubuluslar yanında tam spermatogenetik hücre serisinin bulunduğu seminifer tubuluslar görülmüştür (Resim 1). Bu tip seminifer tubuluslarda çoğunlukla lümeninde olgunlaşmamış hücre topluluklarına rastlandı (Resim 2). Bu hücreler bazen atipik hücre toplulukları halinde bir araya toplanmış spermatid başlarının kaynaşmış durumunu göstermekteydi.



- Resim 1: Diabetli erkeklerin testislerinde seminifer tubulus enine kesitleri. Germinal epiteliumu tamamen kaybolmuş tubuluslar (—) yanında spermatogonial hücre serisinin tam olduğu tubuluslar izlenmektedir. Seminifer tubulus lümenine dökülmüş, olgunlaşmamış hücre toplulukları (\*) dikkat çekici.
- Resim 2: Diabetli erkeklerin seminifer tubulusu içinde Spermatid çekirdeklerinin füzyonu ile oluşmuş çok çekirdekli ev hücreler.

Seminifer tubulusları çevreleyen “peritubuler doku” veya lamina propria, azoospermik vakalarda çok, oligozoospermik vakalarda daha az miktarlarda kalınlaşmalar göstermiştir. Bu bulgu, spermatogenezisi engelleyen ve kan-testis bariyeri üzerinde belirgin en önemli etken olarak değerlendirilmiştir.

Germinal epiteliumda hücreler arasındaki düzenli ilişkiler bozulmuş, zaman zaman hücre sıralarındaki yerler değişmiştir (Resim 2). Önemli bir bulgu da oligozoospermik hastaların germinal epitelinde iri spermatogoniumların ve çift çekirdekli spermatogoniumların ortaya çıkmasıdır (Resim 2). Germinal epitelde ayrıca hücrelerin anormal yapılarına, multinükleer spermatidlere ve degeneratif germ hücrelerine daha sık rastlanmıştır (Resim 3,4).

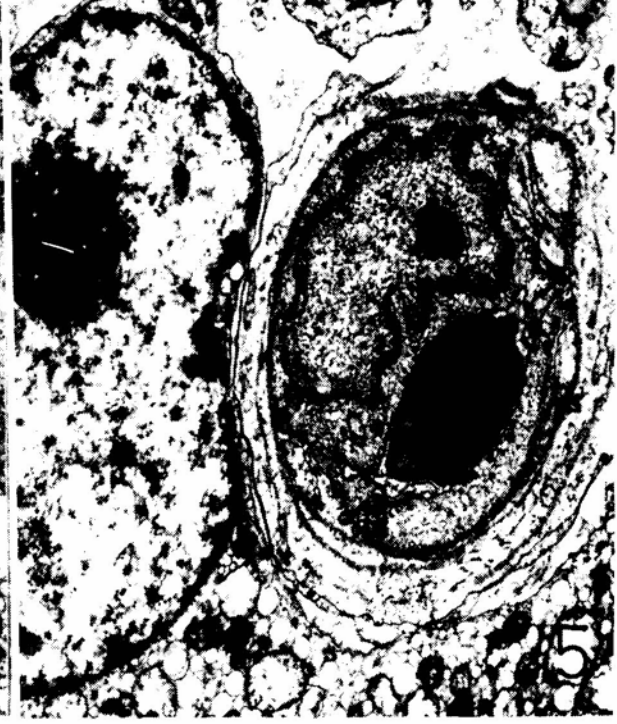
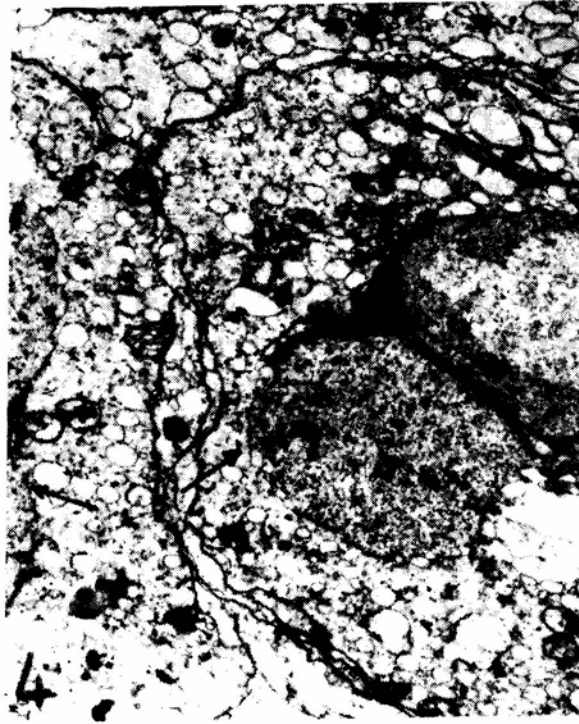


Resim 3: Diabetik erkeklerin testisine ait Elektronmikrografta Seminifer tubulusun bir parçası izleniyor. Kalınlaşmış Peritubuler doku: Invaginasyonlu çekirdeği, iri lipid(li) inklüzyonları ve dilate SER içeren sitoplazması ile belirgin Sertoli hücresi (S) ve bir Spermatogonium (Sg) görülmektedir. Sertoli-Sertoli özel bağlantı kompleksleri (→).

Sertoli hücreleri hemen tüm testis biopsilerinde az veya çok olarak etkilenmiştir. Işık mikroskopu seviyesinde iyi izlenemeyen hücre elemanlarının ultrastrüktür bozuklukları fonksiyonu etkileyecek derecelerde bulunmuştur. Düz endoplazma retikulumunda (SER) dilatasyonlar, lipid ve lipofuscin inklüzyonlarındaki aşırı artmalar (Resim 5) dikait çekmiştir.

Leydig hücrelerinin sayıları çoğu vakada azalmıştır. Bunların morfolojileri elektron mikroskopta incelendiğinde, perinükleer mesafelerde yer yer artma, SER dilatasyonları

ve vakuollerinin çoğaldığı görülmüştür (Resim 6). Birçok mitokondride kristallerde azalma ve mitokondri matriksinde, elektron yoğun madde birikimine rastlanmıştır. Erişkin Leydig hücrelerinde bulunan Reinke kristallerine diabetli hastaların testislerinde daha fazla sa-

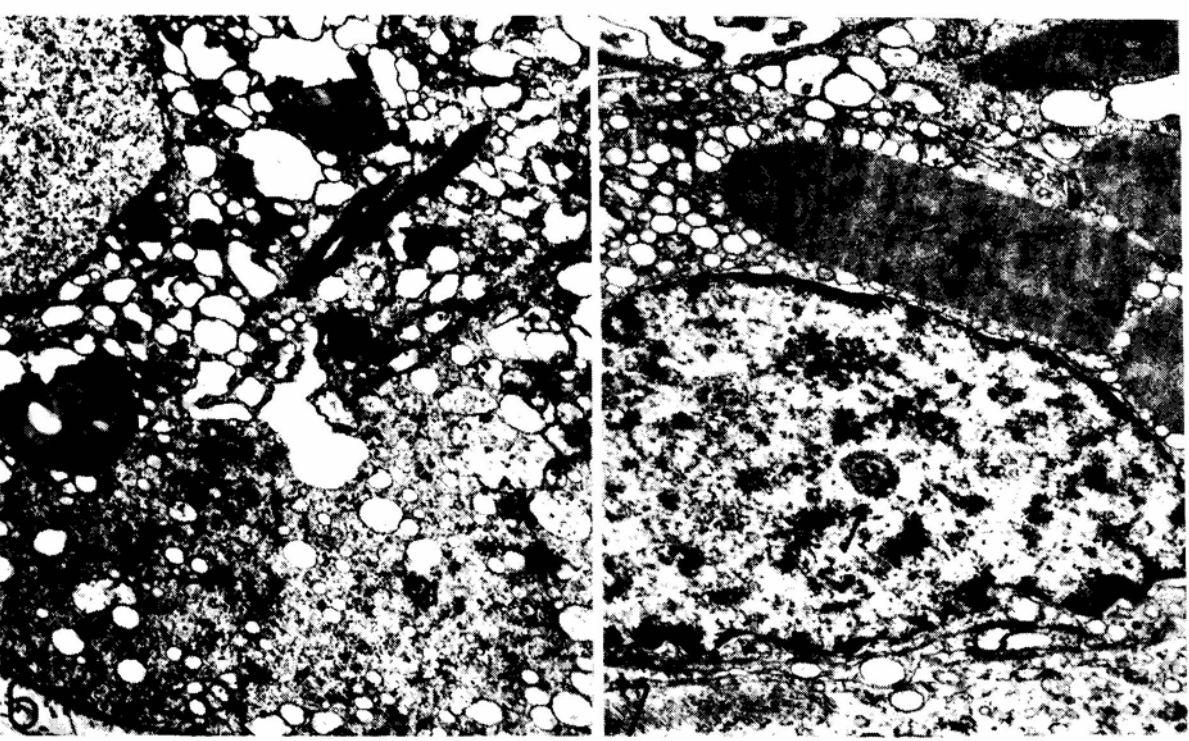


Resim 4: Diabetli erkeklerin Germinal epiteliyumunda sık rastlanan binuklear spermatidlerden ikisi elektronmikrografta yan yana izleniyor (—).

Resim 5: Diabetlilerin testislerinden alınan elektronmikrografta leydig hücreleri yakınında, küçük kan damarları etrafında artmış kollagen birikimi.

yıda rastlanılmıştır. Ayrıca kristalloid öncü formlar hem Leydig hücreleri sitoplazmasında hem de önemli bir bulgu olarak çekirdek karyoplazması içinde görülmüştür (Resim 7). Leydig hücrelerinde multivesiküler cisimciklerin çoğaldığı da dikkati çekmiştir. Bu hücrelerde özellikle steroid biyosentezini ilgilendiren SER, mitokondrium, lipid, lipofuscin inkluzyonlarındaki değişiklikler belirgin olarak ortaya çıkmıştır. Ayrıca sekonder lizozomların miktarlarında artış görülmüştür.

Ara dokuda rastlanan kapillerlerin bazal laminaları çoğunlukla kalınlaşmış olarak görüldü. Bunların endotel hücrelerinin şişmiş ve hücre organellerinin azalmış olduğu dikkati çekmiştir. Ayrıca küçük kan damarları periferisinde çoğunlukla kollegenden zengin ekstrasellüler matriks görülmüştür (Resim 8).



Resim 6: Diabetli erkeklerin Sertoli hücrelerinde sıklıkla rastlanan Charcot-Böttcher kristalloid yapısı (→).  
Resim 7: Diabetli erkeklerin Leydig hücrelerinde sıklıkla rastlanan Reinke kristalloid yapıları (\*) ve intranuclear parakristallin inklüzyon (→).

## TARTIŞMA

Diabetin testis fizyolojisi ve morfolojisi üzerinde gösterdiği zararlı etkiler deneysel diabetli hayvan modellerinde<sup>(1,6,7,11,12,13)</sup> spontan<sup>(3,9,10,14,16,17,19)</sup> gösterilmiştir. Diabetli insan testislerinin ultrastrüktür morfolojisini inceleyen araştırma oldukça azdır. Diabetin etkisi ile testis atrofisi ve infertiliteye ilaveten hipogonadizmin ortaya çıktığı yazılmıştır. Buna karşılık bazı araştırmacılar ise spermatogenik infertilitenin erkek diabetik hastalarda yaygın olmadığını yazmışlardır<sup>(3,13)</sup>. Özellikle Fearman ve arkadaşları<sup>(5)</sup> infertilitesi olan bir seri hastada germinal epiteliumda önemli dökülmeler ve hipospermatogenezis olmasına rağmen interstitial Leydig hücrelerinde normal strüktüre rastladığını yazmışlardır. Bizim hem deneysel diabetli hayvan testislerinde hem de spontan diabetli insan testis biopsilerinden elde ettiğimiz bulgular ise spermatogenezis olayında tüm kademelerde ve elemanlarda özellikle de sertoli ve Leydig hücrelerinde ultrastrüktür etkilenmeler olduğunu ve bozulmuş morfolojinin fonksiyonu etkileyecek seviyelerde bulunduğunu göstermektedir (Resim 5,6).

Bilindiği gibi seminifer tubulus içindeki Sertoli hücreleri ile interstitial sahalardaki Leydig hücreleri somatik kaynaklı hücrelerdir. Birbirlerine benzeyen hücre elemanları

taşırlar ve aynı zamanda steroid biyosentezine hizmet eden fonksiyon gösterirler. Her iki hücrede de diabetik ortamda önemli ultrastrüktür bulguları tespit edilmesi, testisin hormonal dengesi açısından da önemlidir. SER sisternalarındaki dilatasyonlar ile mitokondria kristallerindeki bozukluklar ve daha önemlisi de mitokondriler içinde izlediğimiz elektron yoğun madde birikimi, testosteron biyosentezindeki kademelerde engellenme ve yan zincirlerdeki blokajı göstermesi bakımından önemli bulgular olarak değerlendirilmelidir. Testiste testosteron biyosentezinin kademelerinin yolu SER sisternaları ve mitokondria arasında geçmektedir (Tablo 2).

Tablo 2

Leydig hücrelerinde Testosteron biyosentezinde  
izlenen yollar

<u>SER üzerinde</u>	<u>Mitokondriyum üzerinde</u>
ASETAT	KOLESTEROL
(H <sub>3</sub> COOH)	Hidrolaz
Kolesterol	Hidrolaz
biyosentezi	
Progesteron	Isokaproik
Hidroksisteroid	asid
dehidrogenaz	Pegnenolon
İzomeraz	
Hidrosilaz	
Androstendion	
TESTOSTERON	

Diabetik erkeklerin peritubular dokusu da deneysel diabetli sıçanların peritubuler dokusu gibi kalınlaşmalar göstermiştir<sup>(1,10,12)</sup>. Tubul duvarındaki kalınlaşmalar hücresiz tabakalardaki kollagen miktarının artması ile ortaya çıkmıştır. Bu kalınlaşmalar her zaman spermatogenezis bozulmaları, germinal hücrelerin beslenememesi, olgunlaşmayan hücreler ve bunların lumene dökülmesi sonucunu doğurmaktadır. Testis fonksiyonlarını bozucu bir çok etkene karşı peritubuler dokunun kalınlaşmasının nedeni yeterince açıklanamamıştır. Bu kalınlaşmanın ortaya çıkardığı perfüzyon bozukluğu peritubuler dokudaki kollegenin orijininde bir disfonksiyonla izah edilmiştir<sup>(8)</sup>. Bu kalınlaşmalar interstitial sahalardan gelen testosteronun Sertoli hücrelerine iletimini de engellemektedir.

Leydig hücrelerinin sitoplazmasında erişkin erkeklerde görülen Reinke kristallerine diabetik hastalarımızda daha sıklıkla rastlanmıştır. Steroid biyosentezinde bir depolanma gibi yorumlanan bu tipik şekiller (Resim 6,7,8) birçok defa kristalloid ön formlar (Parakristallin inklüzyonlar) olarak da görülmüştür (Resim 7). Kristalloid yapılara Leydig hücresi çekirdek karyoplasması içinde rastlanması ise çok seyrek bir bulgudur. Benzer kristalloid yapılara Charcot-Böttcher kristalleri olarak Sertoli hücresi sitoplazmalarında aynı mekanizmaya bağlı olarak daha sıklıkla rastlanılmıştır. Buna benzer bulguları biz

değişik etiyolojik sebebe bağlı olarak, primer gonadal defekti bulunan, Klinefelter sendromlu, ağır varikoseli olan, kriptorchidismuslu ve yaşlı insan Leydig hücrelerinde rastlamıştık<sup>(4)</sup>.

Diabetlilerde interstitial dokularda gözlediğimiz değişiklikler, mikrovasküler bozukluklar yanında, Leydig hücreleri etrafındaki sahalarda kollagen miktarlarının artması ile de ilgilidir. Diabetik erkeklerde peritubular dokuda kollagen ve fibröz kalınlaşmalar bizim daha önce yaşlı erkek testislerinde bildirdiğimiz degeneratif değişikliklere çok benzemektedir<sup>(2)</sup>. Bu bakımdan diabetin testis strüktür ve fonksiyonu üzerindeki zararlı etkilerini bu hastalığın doku yaşlanmasını hızlandırması sonucu olarak ortaya çıkabileceğini düşünmekteyiz.

## ÖZET

Diabetli insan testislerinden alınan biyopsi örnekleri ışık ve elektron mikroskopi seviyesinde morfolojik açıdan değerlendirildi. Genel testiküler değişikliklerin yanı sıra hem Leydig hem de Sertoli hücreleri organellerinde sekresyon mekanizmasındaki bozuklukları gösteren ultrastrüktür bulgularına rastlandı.

## SUMMARY

Biopsy samples of testes from diabetic men were studied morphologically at the level of light and electron microscopy. Besides the general testicular alterations, ultrastructural findings were observed in the organelles of both Leydig and Sertoli cells, indicating changes in the mechanism of secretory activity.

## KAYNAKLAR

- 1 — Aytakin, Y., Altuğ, T., Devrim, S., Ömer, A., Erbeni, T., Küçük, M.: Streptozotocin (STZ) diabetinde sıçan testislerinde ışık ve elektron mikroskopi bulguları. Diabet yaylığı, 181-1982, 1983.
- 2 — Aytakin, Y., Erbeni, T., Solok, V., Akaydın, A.: Yaşlı insan testislerinde ultrastrüktürel değişiklikler. 6. Elektronmikroskopi Kongresi 20-25 Eylül 1981 Özet Kitabı s.64, 1981, İstanbul.
- 3 — Cameron, D.F., Orth, J. and Murray, F.T.: Morphological alteration in the testes from diabetic man and rat. Diabetes 31:11 A 1982.
- 4 — Erbeni, T., Berker, F., Sandalcı, Ö., Aytakin, Y., Gürsoy, E., Azizlerli, H.: Hoden mit gestörter spermatogenese: Ultrastrukturelle Befunde versciedener Atiologie. verh.Anat.Ges. 73:711-712, 1979.
- 5 — Faerman, I., Vilar, O., Riverola, M., Rosner, J., Jadzinski, M., Fox, D., Perez, A., Bernstein-Hahn, L. and Saraceni, D.: Impotence and diabetes studies of androgenic function in diabetic impotent males. Diabetes, 21:23-30, 1972.
- 6 — Howland, B.E., Zebrowski, E.J.: Some effects of experimentally-induced diabetes on pituitary-testicular relationships in rats. Horm Metab Res 8:465-469, 1976.
- 7 — Hunt, L.E., Bailey, D.W.: The effect of alloxan diabetes on the reproductive system of young male rats. Acta Endocrinol 38:432-440, 1961.
- 8 — Hutson, J.C.: Altered biochemical responses by rat Sertoli cells and peritubular cells cultured under simulated diabetic conditions. Diabetologia 26:155-158, 1984.
- 9 — Kolodny, R.C., Kohn, C.B., Coldstein, H.H., Barnett, D.M.: Sexual dysfunction in diabetic men. Diabetes 23:306-309, 1974.

- 10 — Murray, F.T. and Pendergast, J.: Impotence in diabetic man; A disorder of hypergonadotropic hypogonadism. *Diabetes* 31:11 A, 1983.
- 11 — Okansen, A.: Testicular lesions of streptozotocin diabetic rats. *Hormone Res* 6:138-144, 1975.
- 12 — Orth, M.J., Murray, F.T., Bardin, C.W.: Ultrastructural changes in Leydig cell of streptozotocin-induced diabetic rats. *Anat. Rec.* 195:415-430, 1979.
- 13 — Paz, L., Homonnai, Z.T., Drasnin, N., Sofer, A., Kaplan, R., Kraicer, P.F.: Fertility of the streptozotocin diabetic male rat. *Andrologia* 10:127-136, 1978.
- 14 — Rodriguez-Rigau, L.J.: Diabetes and male reproductive function. *J.Androl* 1:105-110, 1980.
- 15 — Rossi, G.L. and Aeschilmann, M.: Morphometric studies of pituitary glands and testes in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Andrologia* 14:532-542, 1982.
- 16 — Schoffling, K.: Diabetes Mellitus and Male Gonadal Function in: *Diabetes*. Ed: R.R. Rodrigues and J.Vallance-Owen Excerpta Medica 1971.
- 17 — Schoffling, K., Federlin, K., Ditschneit, H., Pfeiffer, E.F.: Disorders of sexual function in male diabetics. *Diabetes* 12:519-527, 1963.
- 18 — Wright, J., Yeates, A., Sharma, H., Shim, C., Tigner, R., Thibert, P.: Testicular atrophy in the spontaneously diabetic BB Wistar rat. *Am J.Pathol.* 108:72-79, 1982.
- 19 — Zeidler, A., Gelfand, R., Tamagna, E., Marrs, R., Chopp, R., Kletzky, O.: Pituitary gonadaf function in diabetic male Patients With and Without Impotence. *Andrologia* 14:62-67, 1982.