



TÜRK ÜROLOJİ DERGİSİ

Cilt: 9, Sayı: 3, 189-198, 1983

KARIN İÇİ ORTAMIN SPERMATOGENEZ ÜZERİNE ETKİSİ

(The Effect of Abdominal Milieu on Spermatogenesis)

Dr. Yener Aytekin (*), Dr. Armağan Öner (**), Dr. Y. Doğan Anıl (*)

GİRİŞ

Kriptorşidizmin Spermatogenez üzerine yaptığı etkileri araştırarak bir çok çalışma yapılmıştır. Erişkin deney hayvanlarının Kriptorşidizm kanın içine fikse edilmesi yolu ile (2) veya konjenital modele daha yakın bir yol olan yeni doğmuş deney hayvanlarının gubernakulum testisinin kesilmesi yolu ile (3) gerçekleştirilmiştir. Her iki şekilde de temin edilen deneysel kriptorşid modelde testislerde germinal hücreler yanında Sertoli ve Leydig hücrelerinde etkilendiği gösterilmiştir. Testisin etkilenmesinin en önemli nedeni, karın için yüksek ısının etkisine bağlanmıştır. Karın içi ortamın testiste spermatogenez üzerine olan etkisinin incelenmesi veya spermatogenezin hangi kademesi üzerinde etkili olduğu merak konusu olmuştur (2, 7.) Bu sebepten bu çalışmamızda, karın içi ortamda spermatogenezin başlaması veya sürekliliğinin sağlanması araştırılmıştır.

MATERYEL VE METOD

Bu çalışma rattus norvegicus albino sıçanlarının yeni doğmuş erkek yavrularının testisleri erişkin sıçanlarının testisleri içerisine implante edilmiştir. Bütün sıçanlarda inbred aile fertlerinden alındılar.

Implantasyon yapılanlar ve kontrol için seçilen sıçanlar üç grup teşkil etti.

Grup I - Kontrol grubu : Yeni doğmuş 5, 10, 15, 30 ve 60 günlük sıçanların testisleri karşılaştırmayı sağlamak için kullanıldı.

(*) I.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi.

(**) I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi

(***) VI. Ulusal Üroloji Kongresinde tebliğ edilmiştir. 12-15 Ekim, 1981 Bursa

Grup II - Erişkin sıçan testislerinde yeni doğmuş sıçan testisleri implante edilerek Scrotum içinde bekletildi.

Grup III - Erişkin sıçan testislerine yeni doğmuş sıçar; testisleri implante edilerek karın içine tesbit edildi.

Deneyssel kriptorşidizm daha evvel uyguladığımız metod ile yapıldı (2).

Deney grubundaki hayvanlardan 10, 15, 30 ve 60 gün sonra testisler total olarak alındı. Kesitler çıkarılan testislerin implantasyon bölgesinden geçecek şekilde alınarak bloklar hazırlandı.

Işık mikroskopu araştırması için, testis dokuları Bouin ve Formol fiksatiflerinde tespit edildiler. Parafin bloklardan hazırlanan 4-6 mikron kalınlığındaki kesitlere Hematoksilin+Eosin ve PAS Hemalaun boyaları yapıldıktan sonra Zeiss ve Leitz fotomikroskoplarında değerlendirildi.

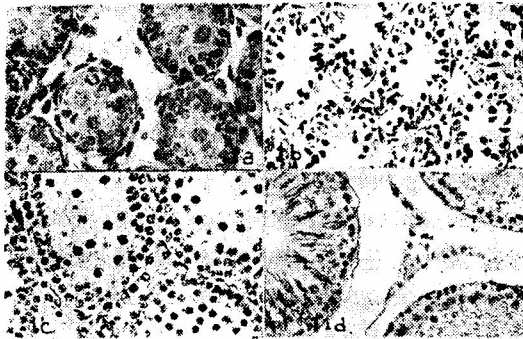
Elektron mikroskop araştırması için doku parçaları % 1 lik izotonik-Osmik asit solüsyonunda fikse edildi. Asetonla suları giderilip vestopal bloklanması yapıldı. Vestopal bloklardan 400-700 Angstrom kalınlığında alınan kesitler, ZEISS EM 9 2S ve JEOL 100 C elektron mikroskoplarında resimlendirilerek değerlendirilmeleri yapıldı.

BULGULAR

Grup I Kontrol grupları

Kontrol grubunu, implantasyonu yapılan testis dokularının karşılaştırılmasına imkan sağlamak maksadı ile 5, 10, 15, 30 ve 60 günlük hayvanlardan alınan testisler olacaktır.

5 günlük Sıçan testisi (Resim 1a)



Resim 1. Kontrol grubu. a) 5 günlük sıçan testisi, b) 10 günlük sıçan testisi, c) 15 günlük sıçan testisi, d) 60 günlük sıçan testisi.

Germinal epiteliumda hakim olan hücreler Sertoli hücreleriydi Gonositlere ve A tipi Spermatogoniumlara seyrek olarak rastlandı. Germinal epiteliumda sıklıkla mitoz bölünmeler görüldü.

10 Günlük Sıçan Testisi (Resim 1b)

Seminifer tubulaslarda A tipi spermatogoniumlarda artış görülürken B tipi spermatogoniumlara da rastlanıldı. Nadiren Primer Spermatisitler de görüldü. Interstitial ara dokuda Leydig hücreleri de seçildiler.

15 Günlük Sıçan Testisi (Resim 1c)

15 günlük testiste Sertoli hücreleri nükleusları daha oval ve düzenli şekildedeydi. A ve B tipi Spermatogoniumlardan başka primer spermatisitler de izlendi. Bazı tubulusların lümenlerinde degenere hücre artıklarına rastlanıldı. Interstitial alanda daha çok kapillerler yakınında Leydig hücreleri vardı.

30 Günlük Sıçan Testisi

30 günlük sıçan testisleri erişkin sıçan testislerine çok benziyordu. Spermatogoniumlar Spermatisitler ve spermatid mevcuttu. Bir çok tübül lümeninde degenere hücre artıkları görüldü.

Sertoli hücreleri ve Leydig hücreleri tipik morfolojik yapılarını kazanmıştır.

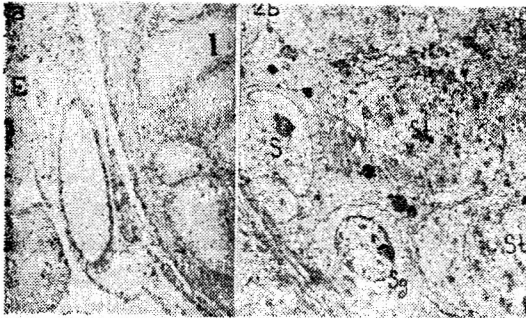
60 Günlük Sıçan Testisi. (Resim 1d).

Erişkin Sıçan testislerinin tüm özelliklerini gösterdi.

GRUP II

Erişkin sıçan testislerine yeni doğmuş sıçan testisleri implantasyonu yapıldıktan sonra Scrotum içinde bekletilen Grup (Resim 2, 3). İmplantasyon uygulanan testislere «ev sahibi testis» implante edilen testislere «misafir testis» ifadesini kullanarak anlatımı kolaylaştırmak istiyoruz.

Işık mikroskopunda elde edilen resimlere «ev sahibi testis» ile «misafir testis» birlikte gösterilmesine gayret edildi. (Resim 2a, 4).



Resim 2. a) İmplantasyon yapıldıktan 15 gün sonra scrotumda, ev sahibi testis (E) ve Misafir testis (I) dokusu birlikte izleniyor.

b) İmplantasyon dokusunun elektronmikrografında Spermatogonium (Sg), Spermatisit (St) ve Sertoli hücresi (S).

İmplantasyondan sonraki günlerde izlenen testislerde ev sahibi dokuda her hangi bir değişiklik yoktu.

İmplantasyon yapılar ve gelişmesini sürdüren misafir testis dokusu red olayı (Rejeksion) olmamışsa 10 Gün, 15 Gün, 30 Gün ve 60 gün sonra izlendiler (Res. 2a, 2b). Ev sahibi doku ile misafir doku arasında bir bağ sınırlaması mevcuttu.

Bütün gruplarda misafir doku sıhhatli ve gelişmekte olan bir doku görünümünü korudu. Yalnız misafir testisler kontrol grubunda görülen normal testis dokularından gelişme olarak 5 gün daha geride bulunuyordu.

İmplantasyondan 60 gün sonra rejeksiyona uğramayan misafir dokularında spermatogenezisin bütün safhaları izlendi.

GRUP III

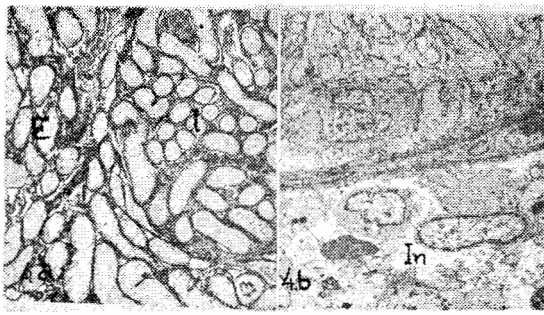
Erişkin sıçan testislerine yeni doğmuş sıçan testisleri implantasyonu yapıldıktan sonra karın içinde tesbit edilen grup (Resim 3a, 3b, 4a, 4b).

Ev sahibi doku deneysel kriptorşidizm uygulanan testislerin zaman içinde aldığı değişiklikleri gösterdi. 14. gün içerisinde germinal epitelium oldukça önemli bozukluklara uğradı. Lamina Propria kalınlaşmış, germinal hücreler dökülmüştü. Sertoli hücreleri stoplaşmasında büyük vakuoller belirdi. (Resim 3a, 3b, 4a).



Resim 3. a) İmplantasyondan 15 gün sonra intraabdominal misafir testis (I) ve evsahibi testis (E) dokusu beraberce izleniyor. b) daha büyütülmüş mikrofotografide spermatositler iyi seçilebilmekte.

Ev sahibi testis kriptorşid testis görünümü kazanırken implante edilen «misafir testis» ilk 15 gün içinde Grup II'deki bulgularla aynı olan gelişmeyi gösterdi. İmplantasyondan 15 gün sonra «misafir testis» seminifer tübü-



Resim 4. a) Implantasyondan 30 gün sonra Intraabdominal Kriptorşid görünüm almış misafir testis (I) ve evsahibi testis (E).
b) Misafir testisin elektronmikrografında seminifer epiteliumun tipik kriptorşid görünümü. Interstitiumde (In) infiltrasyon hücreleri.

lülüslerinde Spermatogoniumlar, ve primer Spermatozoidler görülmekteydi. (Resim 3b) Sertoli hücreleri tipik yapılarını kazanmış ve bunların membranları arasında yer yer özel bağlanma kompleksleri teşekkül etmişti.

İnfiltrasyon hücrelerinden zengin interstitial doku içinde Leydig hücreleri tek tek veya küçük gruplar halinde seçilebiliyordu. Buralarda Mast hücreleri de izlendi. (Resim 4b)

İmplantasyondan 30 ve 60 gün sonra izlenen misafir dokuda bir gerileme görüldü. Tubulus çapları genişlemiş evsahibi dokuda olduğu gibi kriptorşid testis görünümü belirmişti (Resim 4a). Bu grupta önemli bir bulgu da Seminifer tubulusların Lamina Propriaları yer yer erimiş ve tubuluslar çatallı bir durum kazanmıştı.

T A R T I Ş M A

Fetal veya yeni doğmuşlardan alınan testisler erişkin organların aksine kolaylıkla implante edilebilmektedirler (26). Bu transplant dokularda hormon yapımları ve germ hücrelerinin çoğalmaları normal değerlerin altında kalmaktadır (1, 5, 26) Scrotum ısısına uygun yerler yapılan testis implantasyonlarında Spermatogenezisin gerçekleşebileceği gösterilmiştir. (7, 18, 26). Elbet bütün bu olaylar, ev sahibinin immünolojik davranışı ve vaskülarizasyonun durumu ile de sıkı ilişkilidir. Biz deney hayvanlarımızı inbred popülasyondan alarak immünolojik davranışlarda kolaylık sağlamaya çalıştık.

Litaretürde, karın içi ortamın spermatogenezisin başlatılmasına etkisi üzerinde çok az durulmuştur. Chowdhury ve Steinberge (26) karın içi ortamın Spermatogenezisin başlatılmasını sağladığı ancak ilerlemesinde süre-

liliği sağlayamadığını bildirmişlerdir. Bizim neticelerimizde bu bulgularla tamamen uyum içindedir.

Erişkin testisler içinde gelişmesi takib edilen misafir testis dokularının, kontrollere göre, 5-8 günlük bir gelişme geriliği içinde oldukları bulunmuştur. İmplantasyon dokularının ortama intibakları gecikmelere sebep olmuştur (18, 26).

Scrotum içinde gelişmesi takib edilen misafir testis dokuları engellenmeden gelişmelerini sürdürmüşler ve spermatozoon üretebilmişlerdir. Bu bulgumuz daha önce deri altı (26, 29) periton içi (7) göz kamerası (5, 21, 25) ortamlarına yapılan implantasyonlardan daha başarılı olmuş ve Scrotum içine yapılan (18, 19, 22, 26). Testis transplantasyon işlemlerine uygunluk göstererek uzun zaman hayatiyetini korumuştur.

Karın içi ortamında gerçekleştirilen implantasyonlarda eğer rejeksion olmamışsa ilk 15 günden içinde misafir dokuma gelişme devam etmiş, 15 günden sonra geriye dönüş başlamıştır. Bu önemli bulgu sıçan testislerinin normal gelişmesi takib edilerek değerlendirilebilir. Germinaj epiteliyumda hem Sertoli hücrelerinin ve hem de germinal hücrelerin en hızlı farklılaşmaları 7 ve 14. günler arasında olmaktadır. (8, 24, 29) Yine sıçan testislerinde DNA sentezinin 8. günde en üst düzeyde olduğu 14. günden itibaren de düşme gösterdiğine dair bulgular vardır (4, 2, 4). Sertoli hücrelerindeki değişikliklerin 14. günde sonuçlanarak hücre büyümesinin durduğu, SER membranlarında genişlemeler ile hücreler arası bağlantı komplekslerinin oluştuğu gösterilmiştir (9, 10, 20, 24, 26). Bütün bunlarla beraber Leydig Hücrelerinin morfolojik ve metabolik özelliklerinin 14. günlerde kazanıldığına dair Literatür bulguları (3, 6, 8, 16, 21) da implantasyon dokularının karın içi ortamda 14. günden sonra neden bozulmaya başladığını açıklamaya yardım edecektir.

Bununla beraber, implantasyon yapılan «misafir doku» ortam Scrotum içi veya karın içi de olsa ilk 14 gün gelişmesini devam ettirmiştir. Ancak Spermatogenez karın içi ortamda 14. gün civarında bozulmaya başlamıştır. Bu zaman içinde Spermatogoniumlar mitoz ile çoğalmışlar ve seminifer tübülüs içinde Primer spermatozoidler görülmeye başlamıştır. Yani karın içi ortamın spermatogenesisin başlaması için bir engel teşkil etmeyeceği yönündeki görüşler (7, 23, 26) bizim çalışmamızla da desteklenmiştir. Sıçanlarda primer spermatozoid seminifer tübülüs içinde görülmeye başladığı zaman da gelişmenin 14. gününe rastlamaktadır (8). Spermatozoidlerin geçirdikleri Meiosis bölünmenin yüksek ısıda engellendiği bilinmektedir. (17, 27, 28). Bu bilgiler karın içi ortamında gelişmesine devam eden testis implantasyon dokusunun Meiosis geçireceği devrede buradaki yüksek ısıdan etkilenerek gelişmesini sürdüremediği düşüncesini kuvvetlendirmektedir..

Spermatogenezis düzenli bir şekilde başlayabilmesi ve sürdürülebilmesi için iki şart öne sürülmüştür. İlki Sertoli hücrelerinin normal ve düzenli işleyen sekretuar etkinlikleri ve diğeri de germinal hücrelere etki eden androgenlerin testislerde yeterli konsantrasyonda bulunmasıdır (14). Kriptorşid testislerde ABP salgılanmasının düşük düzeylerde olduğu (11, 12, 13) ve yüksek ısılarda LH ve FSH reseptörlerinin sayılarının azaldığı (3) bildirilmiştir.

Bu bulgular, yüksek ısılardan hemen etkilenen hücreler olarak bilinen germinal hücrelerin yanında, Sertoli ve Leydig hücrelerinin bozukluklarının da düşünülmesi gerektiğini göstermiştir. Özellikle Sertoli hücreleri germinal hücrelerle çok yakın ilişki içinde olduklarından bu hücrelerde görülen yüksek ısı ile etkilenme hemen germinal hücrelere de yansımaktadır. Böylece spermatogenezisin sürekliliği için sağlıklı sertoli hücrelerinin bulunmasına gereksinim olacağı sonucu çıkarılmaktadır (4).

Sonuç olarak bu deneysel çalışma ile karın içi ortamın, spermatogenezisin başlamasına engel olmadığı fakat sürekliliğinde olumsuz yönde etkili olduğu gösterilmiştir.

Ö Z E T

Bu çalışmada, karın içi ortamında Spermatogenezisin başlaması ve sürdürülmesi araştırılmıştır. Yeni doğmuş sıçan testisleri erişkin sıçan testisleri içine implante edilip, Scrotum içinde ve karın içinde gelişmeleri gözlenmiştir. Scrotum içinde implantasyon dokusunda spermatogenezisin başlaması ve sürdürülmesi sağlanırken, karın içi ortamında ilk 14 gün içindeki gelişme daha sonra geriye dönmüş, meiosis bölünme sonrası spermatogenezis sağlanamamıştır.

S U M M A R Y

In this research, initiation and continuation of spermatogenesis in the abdominal milieu has been studied. Testes of neonates of rats have been implanted in the testes of adult rats and their development in scrotum and in abdomen has been observed. While spermatogenesis has initiated and continued in the scrotal implantation tissue in the abdominal milieu development of spermatogenesis in the first 14 days has reversed and it has been impossible to observe spermatogenesis after meiotic division.

K A Y N A K L A R

- 1 — ATTARAN, S E., HODGER - C.V., L.S., VANGALDER, G. C., LAWSON, R.K., and ELLIS, L.R.: Homotransplants of the Testis. J. Urol 95: 387 (1966)

- 2 — **AYTEKİN, Y.:** Deneysel Cryptorchidizm yapılan sıçan testislerinde Işık ve Elektronmikroskopik incelemeleri. TBTA VI. Bilim Kongresi, Tıp Araştırma Grubu Tebliğler Kitabı S. 259-270 (1977)
- 3 — **BERGH, A.,** and DAMSER, J.E.: Morphometric and Functional Investigation on the Leydig Cells in Experimental Unilateral Cryptorchidism in the rat. *Int. J. Androl* 1, 549 (1978).
- 4 — **BRÖKELMANN, J.:** Fine structure of Germ cells and Sertoli Cells during the cycle of the seminiferous epithelium of the rat. *Z. Zellforsch.* 59, 820 (1963).
- 5 — **CHAN, F. ALLISON, J. E.,** STANLEY, A. J. and GUMBRECK, L. G.: Reciprocal Transplantation of Testes Between normal and Pseudohermaphroditic Male Rats. *Fertil Steril* 20, 482 (1969).
- 6 — **CHEMES, H. E.,** RIVAROLA, M. A., and BERGADA.: Effect of HCG on the interstitial cells and androgen production in the immature rat testis *J. Reprod. Fertil* 46, 279 (1976).
- 7 — **A. K. CHOWDHURY** and E. Steinberger.: The Influence of a Cryptorchid Milieu on the Initiation of Spermatogenesis in the Rat. *J. Reprod Fert.* 29, 173 (1972).
- 8 — **COUROT, M.:** Hormonal regulation of Male Reproduction (with Reference to infertility in man) *Andrologia* 8, 187 (1976).
- 9 — **FAWCETT, D. W.:** Interactions between Sertoli cells and Germ cells In: *Male Fertility and Sterility* eds. Mancini R.E., Martini L. p. 13 Academic Press. London, New York, San Fransisco (1974).
- 10 — **FAWCETT, D. W.:** Ultrastructure and Function of the Sertoli cell. In: *Endocrinology Vol. V. Male Reproductive System.* p. 21 Eds HAMMISTON D. W. and GREEP R. O American Physiological Society. Washington (1975).
- 11 — **HAGENAS, L.** and RITZEN, E. M.: Impaired Sertoli cell Function in Experimental Cryptorchidism in the rat. *Mol. Cell Endocr* 4, 25 (1976).
- 12 — **HAGENAS, L.,** RITZEN, E. M., and SUGINAMI, H.: Hormonal Milieu of the Seminiferous Tubules in the normal and Cryptorchid Rat. *Int. J. Androl.* 1, 447 (1978).
- 13 — **HAGENOS, L.,** RITZEN, E. M. SVENSSON, J. HANSSON, V., and PIRVIS, K.: Temperature Dependence of Sertoli Cell Function. *Int. J. Androl Suppl*, 2, 449 (1978).
- 14 — **HANSSON, J.,** DJOSELAND, O., TORGERSEN, O., RITZEN, E. M., FRENCH, F. S. and NAYFEH, S. N.: Hormones and Hormonal Target cells in the testis. *Andrologia* 8, 195 (1976).
- 15 — **HANSSON, V.,** RITZEN, E. M., FRENCH, F. S. and NAYFEH, S. N.: Androgen transport and receptor mechanisms in the testis. In: *Handbook of physiology Vol. 5,* 173 (1975).
- 16 — **HOKKER, C. W.:** The Intertubular Tissue of the testis. In: *The Testis*

- 17 — **LEVIER, R. R.:** The influence of temperature on steroidogenesis in the rat testis. *J. Exptl. Zool* 169, 113 (1968).
- 18 — **LUXENBOURGER, M. ARON, M.:** Etude, par homotransplantation de testicule neo-natal de Rat dans le testicule du Rat mur. *Societe de biologie de Strasbourg. Seance du 26 Fevrier* (1966).
- 19 — **MANCINI - R. E., MORANDO, G., GÜERO, M. and PAHUL, G.:** Homotransplantation of the testis in dogs. I. Histological study of the rejection phenomenon. *Medicine Vol. No. 3*, 215 (1971).
- 20 — **NEAVES, W. B.:** The Blood - Testis Barrier. In *The testis Vol 4* p. 125 Eds. Johnson, A. D. and Gomes, W. R., Acad. Press (1977).
- 21 — **RUSSO, I. and ROSAS, J. C.:** Differentiation of mouse Leydig cell in anterior chamber of the rat eye. *Anat. Embryol.* 146, 219 (1974).
- 22 — **SENZAKI, A., ABE, T., SANGEN, H.:** Experimental study on Testicular transplants. *Wakayama Med. Rept.* 13, 123 (1968).
- 23 — **STEINBERGER, E.:** Hormonal Control of Mammalian spermatogenesis. *Physiol Rev.* 51, 1 (1971).
- 24 — **STEINBERGER, E.:** Genetics, Anatomy, Fetal Endocrinology. In: *Endocrinology Vol. 3* Edi. De Groot L. J., P. 1309. Grune and Stratton Pub. New York (1979).
- 25 — **TURNER, C. D.:** Intra-Ocular Homotransplantation of prepuberal testes in the rat. *Em. J. Anat.* 63, 101 (1938).
- 26 — **TURNER, C. D. and ASAKAWA, H.:** Complete spermatogenesis in the intra testicular homotransplants of fetal and neonatal testes in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 112, 132 (1963).
- 27 — **VANDEMARK, N. L. and M. J. FREE:** Temperature effects. In *the Testis Vol. 3* p. 233 Eds. Johnson A. D., Gomes, V. R., and Van Demark N. L.
- 28 — **WAITES, G. M. H.:** Temperature Regulation and the Testis. In: *The testis Vol I* p. 241 Eds. Johnson A.D., Gomes W. R. and Vandemark N. L. Academic press New York (1970).
- 29 — **WALSH, P. C., AMELAR, R. D.:** Embryology, Anatomy and Physiology the Male Reproductive System. In: *Male Infertility.* Amelar R. D. Dublin L. and Walsh P. Saunders Company (1977).