

DENEYSEL DİABETTE TESTİS HİSTOLOJİSİ VE SELENYUM İLE E-VİTAMİNİNİN YARATTIĞI DÜZELTİCİ ETKİLER.

Dr. Doç. Dr. Abdullah ÖZKARAL

ÖZET :

Bu çalışmada sıçanlarda streptozotolin ile yaratılan deneysel diabette testis yapısı ve selenyum ile E vitamininin düzeltici etkisi araştırıldı.

Diabetik testiste seminifer tubulusların germ epitelinde düzensizlik ve hücre kaybı, spermatogenez ve spermiogenezin durması, tubulus çapında küçülme ve bazal membran kalınlaşması saptandı.

İnterstisyel dokuda ve hücrelerinde belirgin bir yapısal değişiklik saptanmadı.

Selenyum ile E-vitamininin ayrı ayrı ve birlikte uygulanması durumunda seminifer tubulusların hemen tamamının aktive olduğu ve germ epitelinin normal sırası ve düzeninde olduğu saptandı. İnterstisyel dokunun hücrelerinde ise bir fark gözlenmedi.

GİRİŞ :

Diabet insanlarda ve deney hayvanlarında fonksiyonel ve yapısal değişikliklere neden olmaktadır (1,6,7,11,17,21). Testislerde meydana gelen değişiklikler seminifer tubuluslarda atrofi, tubulusların duvarını döşeyen germ epitelinde düzensizlik ve hücre kaybı, spermatogenez ve spermiogenezin durması (1,7,17,20), bazal membranda kalınlaşma (1,6,7) ile interstisyel dokunun Leydig hücrelerinde yapısal ve fonksiyonel bozuklukları kapsamaktadır (5,6,7,9,18).

Antioksidan etkiye sahip E-vitamininin testislerde spermatogenez ve spermiogenez aktive ettiği bildirilmektedir (12,13,14). Yine selenyumun memelilerde büyüme ve fertilité için gerekli bir eser element olduğu (2,3,4,16,19,22) ve E-vitamini ile birlikte kullanıldığında laboratuvar hayvanlarında çeşitli hastalıklar ve kanser oluşumunu engellediği bildirilmektedir (2,3,8,15,22).

Bizde deneysel olarak sıçanlarda streptozotolin ile yaratılan diabette, testislerde meydana gelen yapısal bozukluğu ve selenyum ile E-vitamininin bu bozuklukta etkilerini incelemeyi amaçladık.

MATERYAL VE METOD:

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp araştırma Merkezinde (DETAM) yetiştirilen Wistar albino türü 20 genç erişkin erkek sıçan denek olarak kullanıldı. Hayvanlar 5 gruba ayrıldı.

1. ci gruptakiler kontrol grubunu oluşturmak üzere normal beslendi. Geri kalan hayvanlara diabetes oluşturmak üzere tek doz (40 mg/kg) STR intraperitoneal olarak enjekte edildi. Diabetes oluşturulan bu hayvanlardan diabetik kontrolü oluşturmak üzere dört tanesi ayrıldı.

3. cü gruptaki diabetik dört hayvana 21 gün boyunca her gün içme suyu ile 2 ppm sodyum selenit verildi. 4. cü gruptaki diabetik dört hayvana 1,4,7,11,14,18 ve 21. ci günlerde 600 mg/kg tokoferol asetat intraperitoneal olarak enjekte edildi. 5. ci gruptaki diabetik hayvanlara E-vitamini ve selenyum birlikte verildi.

Bütün hayvanlar 25.ci günde açılarak iki taraflı testisleri alındı. Testislerin birer tanesi elektron mikroskopik gözlem için bloklandı. Diğer tekleri ışık mikroskopik gözlem için Bouin solusyonunda fiks edildikten sonra, rutin yöntemle parafin blokları elde edildi. 5 mikron kalınlığındaki parafin kesitlerine genel görünümü incelemek için Hematoksilen-Eosin boyaması, bazal membran kalınlığını saptayabilmek için peryodik asit - Schiff reaksiyonu (PAS) uygulandı. Elde edilen preparasyonlar Olympus Vanox fotomikroskopunda incelenip mikrofotografı alındı.

BULGULAR:

Sağlıklı kontrol grubunda testislerde seminifer tubuluslar spermatogenez ve espermiogenez belirleyen normal histolojik yapıdaydı, yer yer inaktif diyetebileceğimiz tubuluslarda vardı.

Normal yapıdaki aktif tubulusların duvarında bazal membrandan itibaren spermatogonialar ile bunların üzerinde mayoz bölünme aşamasında spermatositler, spermatidler ile lumene doğru spermiogenez belirleyen şekillenmiş ve şekillenmekte olan spermiumlar izleniyordu (Resim I-A).

Aktif tubuluslar arasında yer yer inaktif diyetebileceğimiz bazı tubulusların duvarında ise az sayıda da olsa sertoli hücreleri, spermatositler ve spermatidler izlenmesine karşın şekillenmiş spermiumlar yok denecek kadar azdı (Resim I-B). Bazı tubuluslarda ise tubulus lumenini çevreleyen çok az sayıda hücreye rastlandı. Atretik olası böyle tubulusların duvarında yer alan az sayıda ki hücreler sertoli hücreleri ve spermatogonialardı (Resim I-C).

Tubuluslar arası interstiyel dokuda çeşitli bağ dokusu hücreleri yanı sıra özellikle damarlar çevresinde yoğunlaşan iri, toparlak, eozinofil sitoplazmalı, toparlak ve sentral yerleşimli nukeusları ile Leydig hücreleri yer alıyordu.

Diabetik grubun testis kesitlerinde seminifer tubulusların çapının sağlıklı kontrol grubuna kayısla daha küçük olduğu ve tubulusların duvarındaki germ epitelinin ince ve düzensiz olduğu gözlemlendi (Resim 2). Böyle tubuluslarda, tubulus çapı sağlıklı kontrol grubuna göre küçük olmasına karşın, germ epitelinin daha ince olması nedeniyle tubulus lumeni kontrole oranla genişti. Bazı tubulusların duvarında bazal membrandan itibaren spermatogonialar, spermatositler ve spermatidler izlenmesine karşın spermiogenezi belirleyen şekillenmiş ve şekillenmekte olan spermiumlar gözlenemedi (Resim 2/A). Bazı tubuluslarda ise sadece sertoli hücreleri vardı (Resim 2/C). Diğer bazı tubuluslarda spermatogenetik hücrelerin azaldığı ve normal sıranın bozulduğu izleniyordu (Resim 2/B).

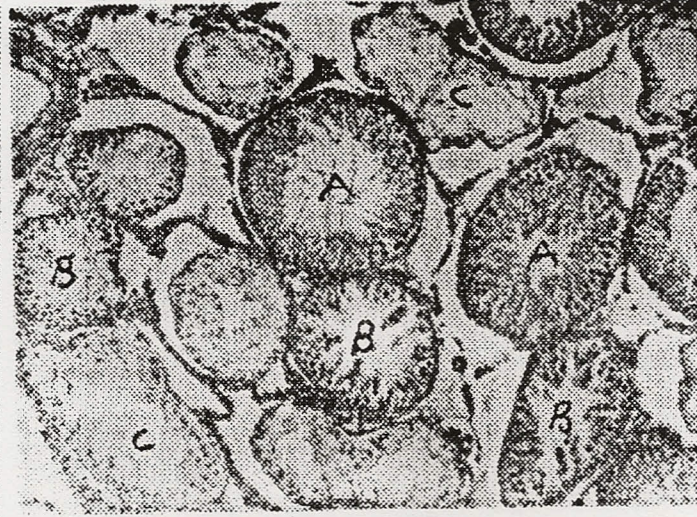
PAS reaksiyonu ile diabetik grubun tubuluslarının bazal membranında kontrole oranla bir kalınlaşma vardı (Resim 3). İnterstisyel dokunun hücrelerinde ise sağlıklı gruba göre belirgin bir yapısal fark izlenemedi.

E- vitamini verilen diabetik hayvanların testis kesitlerinde tubulusların hemen tamamının aktif yapıyı yansıttığı gözlemlendi (Resim 4). Böylece tubulusların duvarında bazal membrandan itibaren spermatogenezi ve spermiogenezi belirleyen tüm hücreler normal sıra ve düzeni içinde izleniyordu. Ayrıca bu tubuluslar diabetik gruba oranla oldukça genişti ve lumenleri dardı. Hatta tubulus çaplarının sağlıklı kontrol grubuna göre de geniş olduğu izlendi. Ancak tubulusların bazal membranları diyabetik gruba oranla daha inceydi. İnterstisyel dokunun hücrelerinde ise yapısal ve fonksiyonel bakımdan bir farklılık saptanamadı.

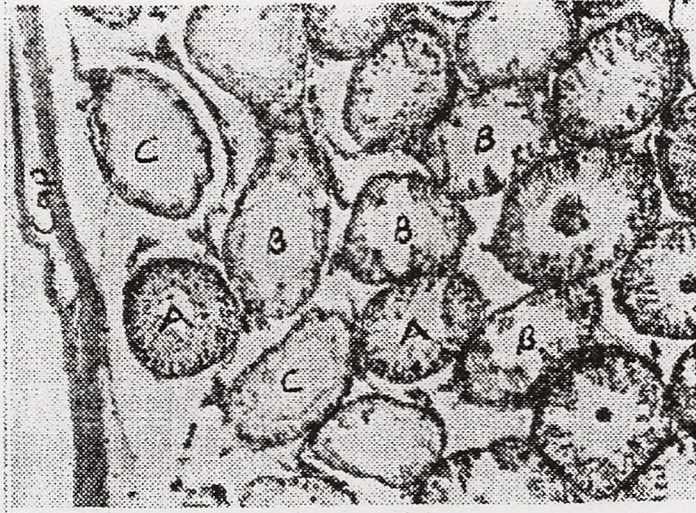
Selenyum verilen diabetik hayvanların testis kesitlerinde, seminifer tubulusların görünümü, E-vitamini verilen grup ile benzerlik gösteriyordu (Resim 5). Buna göre tüm tubulusların duvarındaki germ epitelinin düzeni ve sırası spermatogenez ve spermiogenezin kesintisiz olaylandığını gösteriyordu.

Selenyum ve E- vitamininin birlikte uygulandığı diabetik grubun testis kesitlerinde, seminifer tubulusların görünümü, selenyum ve E-vitaminin ayrı ayrı uygulandığı gruplara benziyordu (Resim 6).

Bu grupta da hemen tüm seminifer tubulusların duvarını döşeyen germ epiteli normal sıra ve düzeninde olup, aktif tubulusların yapısını yansıtıyordu. Hem selenyum hemde E- vitamini ve selenyumun birlikte verildiği gruplarda bazal membran ve interstisyel doku, E-vitamini verilen gruptaki gibiydi.



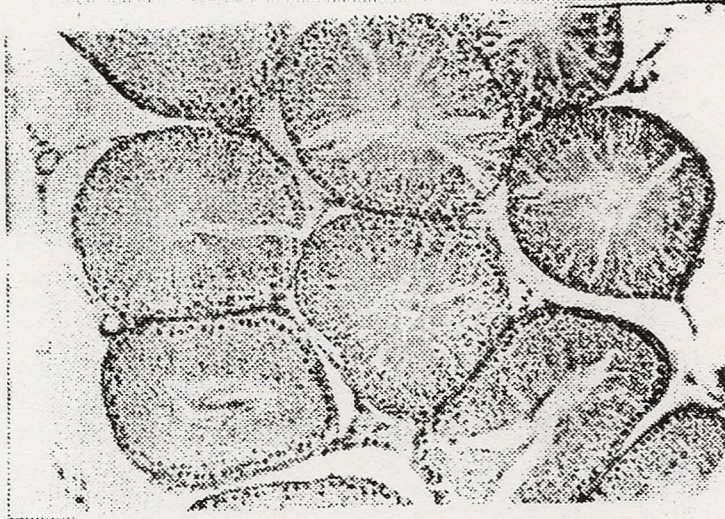
Resim 1: Sağlıklı grup: (A) Aktif tubuluslar (B) inaktif tubuluslar (C) Atretik tubuluslar. Boya: Hem-Eo, X100



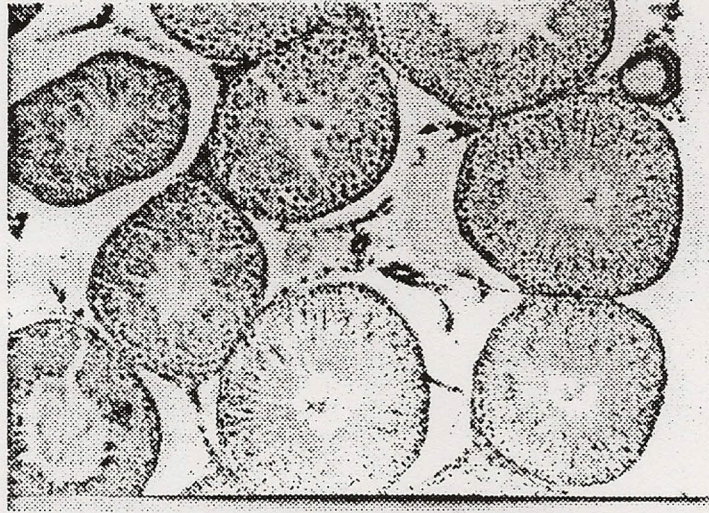
Resim 2: Diabetik grup: (A) spermatogenez belirgin ancak, spermiogenezi belirleyen olgun spermiumlar yok. (B) Germ epiteli düzensiz, (C) Germ epitelinden yoksun tubuluslar. Boya: Hem-Eo., X100.



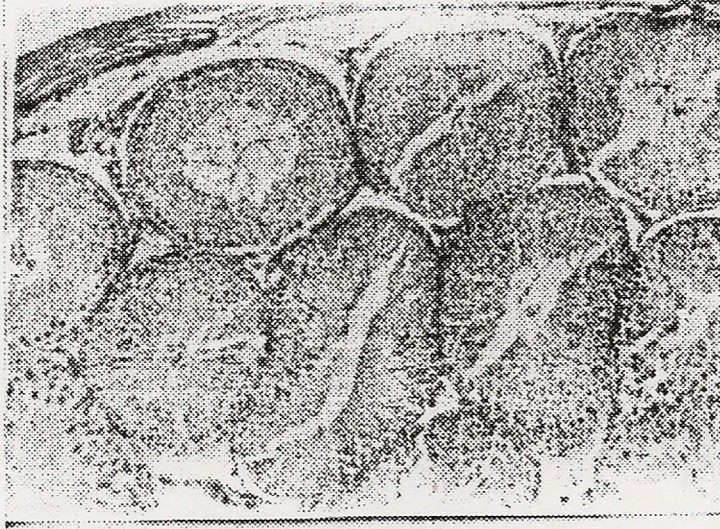
Resim 3: Diabetik grup: Tubulusların bazal membranında kalınlaşma var. Boya: PAS, X200



Resim 4: Diabetik -Vitamin E verilen grup: Tubulusların hemen tamamı aktif durumda. Boya: Hem-Eo, X100



Resim 5: Diabetik-Selenyum verilen grup: Tubulusların hemen tamamı aktif durumda, Boya: Hem-Eo, X100



Resim 6: Diabetik Vitamin E+Selenyum verilen grup: tubulusların hemen tamamı aktif durumda. Boya: Hem-Eo, X100.

TARTIŞMA:

Erkek sıçanlarda streptozotozinin tek doz uygulanmasından sonra oluşturulan deneysel diabetesin üreme fonksiyonunu bozduğu bildirilmiştir (1,5,10,17,18,20,21,23).

Bu çalışma da deneysel diabetes oluşturulan sıçanların seminifer tubuluslarında fonksiyon bozukluğunu belirleyen yapılar saptandı. Preparatlarımızda seminifer tubulusların hemen hemen tümünün çapı sağlıklı kontrol gruba göre dar ve lumenleri geniş, germ epiteli inceydi. Kanımızca germ epitelinde hücre sayısındaki azalmaya bağlı olarak lumen genişliği veya bütünüyle tubulus çapında daralma gelişiyor olmalı. Nitekim (Oksanen 1975 and Cameron 1982) diyabetik sıçanlarda diabetes süresiyle artan oranda tubulus çapında küçülme saptamıştır. Ayrıca tubulus duvarını döşeyen germ epitelinde hücre kaybı ve düzensizlikte çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (1,5,7,17,20,23).

Diabette seminifer tubuluslardaki dejenerasyon yanında interstisyel dokunun Leydig hücrelerinde de artan diabetes süresine bağlı olarak morfolojik ve fonksiyonel değişiklikler meydana geldiği bildirilmektedir (5,6,7,9,18).

Diabette artan süreye bağlı olarak Leydig hücrelerinde meydana geldiği bildirilen morfolojik değişiklikleri preparasyonlarımızda izleyemedik. Beklenen değişiklikleri gözleyememiz sürenin yetersiz olmasından kaynaklanabilir. Seminifer tubuluslarda yapı bozukluğu yaratan deney süresi içinde Leydig hücrelerinde de yapısal veya sayısal değişim beklenirdi. Ancak (Foglia et al 1969) diabetesin spermatogenez ve spermiogenezini engellemesi yanında Leydig hücrelerinde bir farklılık yaratmadığını belirtmektedir.

Diabette insulin eksikliğine bağlı olarak Leydig hücrelerinde meydana gelen yapısal değişikliklerin steroid sentezini dolayısıyla testosteron üretimini olumsuz yönde etkilemesi, seminifer tubuluslarda spermatogenez ve spermiogenezin bozulmasının nedeni olabilir. Nitekim streptozotozinin tek doz injeksiyonundan sonra diabetes oluşturulan sıçanların Leydig hücrelerinde lipid birikimi ve androjen sentezinde iş gören hücre elemanlarında yapısal değişikliklerin meydana geldiği ve bu durumun düşük plazma testosteron seviyeleriyle korrelasyon sağlandığı bildirilmektedir (5,11,17,18,23).

Kanımızca diabetesin yapısal bozukluğu Leydig hücrelerinde ultrastruktural düzeyde olmalı. Bizim çalışmalarımızda elektron mikroskopik düzeyde sürdürülmektedir.

Bazı patolojik koşullarda E-vitamininin iyileştirici etkisi olduğu bildirilmektedir (12,13,14). Keza selenyumun memelilerde büyüme ve fertilité için gerekli bir eser element olduğu da bilinmektedir (2,4,16,19,22). Çok düşük miktarlarda selenyumun doku solunumunda önemli bir faktör olduğu ve böylece hücreleri oksidatif hasardan koruduğu bildirilmiştir (3,8,22). E-vitamininin de selenyum gibi antioksidan etkiye sahip olduğu ve özellikle doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu önleyici etkisi nedeniyle dokuları hasardan koruduğu bildirilmektedir.

(12,13,14,15). Böylece selenyum ve E vitamininin birlikte kullanıldığı patolojik durumlarda düzeltici etkilerinin olması beklenir.

Bizim preparasyonlarımızda da E vitamini ve selenyum verilen diabetik grubun testislerinde beklenen düzeltici etkiyi saptadık. Böylece seminifer tubuluslarda germ epiteli oluşturulan hücrelerin normal sıra ve düzeninde olduğu, spermatogenez ve spermiogenezin kesintisiz olaylandığını gözledik. Hatta sağlıklı kontrol grubunda seminifer tubulusların bazı segmentleri inaktifken, E vitamini ve selenyum verilen sıçanlarda hemen hemen tüm seminifer tubulus kesitlerinin aktif yapıda olduğu saptandı.

Deneyisel olarak doku distrofileri veya organ nekrozlarında selenyum ve E vitamini beraber kullanıldığında yeterli düzelme sağlandığı saptanmaktadır (8,13,22).

Bizim deneyimizde yaratılan fonksiyon bozukluğunda ise E vitamini veya selenyumun yalnız kullanılmasında E vitamini ve selenyumun beraber kullanılmasıyla oluşan yeterli düzelme sağlanmıştır.

SUMMARY:

The structure Testis in Experimental diabetes and Regulation Effects of Vitamin-E and Selenium.

In this study, by using streptozotocin on rats diabetes mellitus was on set experimentally. The corrective effects of selenium and vitamin E on the structures of testes of experimentally created diabetic animals have been investigated.

In diabetic testes in the germinal epithelium of seminiferous tubuls a disorder and cellular depression have been observed as the result of the cessaiton of spermatogenesis and spermiogenesis. at the same time reduction in the diameter of the seminiferou tubulus and thickening in the basal membrane have been detected.

No clean structures differences have been observed in the interstitial tissuc and cells.

When treated with selenium and vitamin E separately or combination, the germinal epithelium was determined to be in the normal order and position in addition almost all of the seminifer tubuls observed to be activeted.

LİTERATÜR:

- 1- Anderson, J.E., Thlivers, J.A.: Testicular histology in streptozotocin-induced idabetes. Anat. Rec. 1986. Apr. 214 (4): 378-382.
- 2- Behne D., Duk M., Elger W.: Selenium content and Glutathione peroxidase activity in the testis of maturing rat. J. Nutr. 1986, 116 (8) Aug. 1442-47.

- 3- Behne D. and et all.: Evidence for spesific selenium target tissues and new biologically important selenoproteins. *Biochem. biophys. Act.* 1988, Jul. 14. 966 (1): 12-21.
- 4- Behne D. and all.: Selenium in the testis of rat: Studies on its regulation and its importance for the organism. *J. Nutr.* 1982, 112: 1982-87.
- 5- Benitez, A., Perez D.: Effect of streptozotocin diabetes and insulin treatment on regulation of Leydig cell function in the rat. *Hor. Metab. Res.*, 1985 Jan. 17 (1): 5-7.
- 6- Cameron DF., Murray FT., Drylie DD.: İnterstisyel compartment pathology and spermatogenic distrupcion in testes from impotent diabetic men. *Anat Rec.* 1985 Sep. 213 (1): 53-62.
- 7- Cameron DF. and et all.: Morphological alterations in the testes from diabetic man and rat. *diabetes*, 1982, 31: 11 A.
- 8- Clark CL., Combs FG: Selenium compounds and the prevention of cancer. *J. Nutr.* 1986, 116: 170-173.
- 9- Cristensen, AK.: The fine structure of testicular interstisyel cells in guinea pig. *J. Cell Biol.* 1965, 29: 911-935.
- 10- Foglia VG. and et all.: Sexual disturbances in the male diabetic rat *Hormone Metab. Res.* 1969, 1: 72-77.
- 11- Fushimi H. and et all.: Low testosterone levels in diabetic men and animals: a possible role in testicular impotence. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1989 May 15. 6 (4): 297-301.
- 12- Machlin LJ. and et all.: Effects of prolonged vitamin E deficiency in the rat. *J. Nutr.* 1977; 107: 1200-1208.
- 13- Menten KH. and Menten G.: Fiziyołojik Kimyada Bakış. Ege Üniv. Tıp Fak. Yayınları No: 100. Ege Üniv. Matbaası. Bornova-İZMİR 1976. Sayfa 577-578.
- 14- Minekata K. and et all.: Enhancement of testicular Cysteine proteinase inhibitor level in vitamin E- deficient rats. *J. Nutr.* 1987. 117: 1416-1421.
- 15- Minakata, K. and at all.: İncreease of a-Cysteine proteinase inhibitör level in serum of vitamin E- deficient muscular dystrophic rats. *Nutr. Rep. İnt.* 1984, 29: 445-459.
- 16- Nebia C. and et all.: Effects of chronic administration of sodium selenite on rat testes. *Res Commo Chem Pathol. Phamacol.* 1987 Nov. 58 (2): 183-197.

17. Oksanen A.: Testicular lesions of streptozotocin diabetic rat. *Hormone Res.* 1975, 6: 138-144.
- 18- Orth J., Murray FT and Bardin WC.: Ultrastructural changes in Leydig cells of streptozotocin induced diabetic rats. *Anat. Rec.* 1979, 195: 415-430.
- 19- Parshad RK, Sud M.: Effect of selenium rich wheat on rat spermatogenesis. *Andrologia* 1989. Sep-Oct. 21 (5): 486-489.
- 20- Paz G. and et al.: Fertility of the streptozotocin diabetic male rat. *Andrologia* 1978, 10: 127-136.
- 21- Rossi GL. and Aeschlimann M.: Morphometric studies of pituitary glands and testes in rats with streptozotocin induced diabetes. *Andrologia* 1982, 14: 532-542.
- 22- Schwartz K?: essentially and Metabolic Functions of selenium *Medical Clinics of North America*, Vol. 60, No. 4 July 1976.
- 23- Tremblay RR. and et al.: Effect of streptozotocin-induced diabetes on insulin binding parameters in adult rat testis *Andrologia*, 1985 Nov-Dec. 17 (6): 587-591.