

HİPOTİROİDİNİN SPERMATOGENEZİS ÜZERİNE ETKİSİ İLE TEDAVİDE L-TROKSİN VE ÇİNKO KULLANIMI

EFFECTS OF HYPOTHYROIDISM ON SPERMATOGENESIS AND THE TREATMENT WITH L- THYROXINE

TAHMAZ, L.¹, KİLCİLER, M.¹, YALÇIN, O.³, KİLCİLER, G.², KOÇAK, İ.⁵, ÖZERCAN, İ.⁴

ÖZET

5-propyl 2-thiouracil (PTU) ile oluşturulan hipotiroidinin, matür rat testisine olan etkisini göstermek ve L-tiroxine ve çinko tedavi kombinasyonlarının sonuçlarını değerlendirmek amacıyla bu çalışma planlandı. 20 erişkin wistar albino ratta 14 gün intraperitoneal (PTU) tedavisi ile hipotiroidi oluşturuldu. Preop, 7. ve 14. Günlerde serum çinko ve tiroid hormon düzeyleri ölçümü yapıldı ve 15. gün unilateral orşiektomi uygulandı. Sonra ratlar kontrol grubu ile birlikte 5 gruba bölünüp, L-tiroxine ve/veya çinko replasman tedavisi 15 gün uygulanıp, Orşiektomiler tekrarlandı ve histopatolojik olarak değerlendirildi. PTU uygulanan ratların serum TSH düzeyleri yükselirken, T3, T4 ve çinko düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu ($p>0.001$). Hipotiroidik testislerde spermatogenezde matürasyon arresti, Sertoli, Leydig hücreleri ve ortalama seminifer tubül çaplarında azalma ile bazal membran kalınlaşması saptandı. Tedavi sonrası tüm gruplarda testis histolojisi ve spermiogenezde düzelme saptandı, ancak en iyi sonuç çinkonun testis fonksiyonları üzerindeki olası etkisini vurgulayan L-tiroxine+çinko sülfat replasmanı uygulanan grupta elde edildi.

ABSTRACT

This study was planned to investigate the effect of 5-propyl 2-thiouracil (PTU) on rat testis, and to compare the results of the different treatment regimens of L-tiroxine and Zinc. 20 sexually mature wistar albino rats were subjected to PTU for 14 days intraperitoneally to make them hypothyroidic. The effect of PTU on testicular function was assessed histopathologically after unilateral orchiectomy on day 15, and treatment period was evaluated by measuring serum TSH, T3, T4 and zinc levels on days 0,7 and 15. rats were then divided into 5 groups to which L-tiroxine and/or zinc treatment were applied for 15 days. Orchiectomies were repeated on day 30 and specimens were evaluated histopathologically. While serum T3, T4 and zinc levels decreased, serum TSH levels increased in PTU treated rats and difference between PTU treated and control group was statistically significant ($p>0.001$). Maturation arrest of spermatogenesis, decreased number of sertoli and leydig cells, decrease of mean tubular diameter, interstitial oedema and thickening of basal membrane has been observed in hypothyroidic testicles. After treatment, testicular histology and spermatogenesis were gradually recovered in all groups with hypothyroidy but maximum improvement was achieved in L-tiroxine+zinc sulphate replacement group, indicating possible role of zinc on testicular function.

ANAHTAR KELİMELEER: Hipotiroidi, de-
neysel, L-tiroksin, çinko, rat.

KEY WORDS: Hypothyroidy, Experimental,
L-thyroxine, zinc, rat.

Dergiye geliş tarihi: 4.12.1998

Yayına kabul tarihi: 21.4.1999

¹ Gülhane Askeri Tıp Akademisi Üroloji

² İç Hastalıkları Anabilim Dalları

³ Fırat Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Üroloji Anabilim Dalı / Elazığ

⁴ Fırat Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Patoloji Anabilim Dalı/Elazığ

⁵ Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı/Aydın

GİRİŞ

Hipotiroidi, tiroid hormonlarının eksikliği veya etkisizliği sonucu ortaya çıkan, metabolizmadaki yavaşlama ile karakterize bir sendromdur. Hipotiroidinin testis histolojisi ve spermatogenezis üzerindeki olumsuz etkisine yönelik pek çok çalışma yapılmıştır.^{1, 2} Öte yandan hipotiroidi olgularında serum çinko konsantrasyonunun düştüğü ve çinko eksikliğinde seminifer tübüller ve germinal epitelde atrofi ile birlikte testis, prostat ve hipofizer gelişme geriliği meydana geldiği saptanmıştır.^{3, 4} Bu çalışmanın amacı erişkin ratlarda oluşturulan hipotiroidinin testis üzerine etkisini göstermek ve L-tiroxine ve çinko replasman tedavisinin sonuçlarını değerlendirmektir.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma 1997-1998 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Araştırma ve Uygulama hastanesi Üroloji Kliniği ile GATA Üroloji Anabilim Dalında yapıldı. 20 seksüel olgun wistar albino rata 14 gün intraperitoneal olarak 5-propyl 2-thiouracil (PTU), 10 mg/kg/gün (sigma) verilerek hipotiroidi oluşturulmuştur. Bu süreçte serum T3, T4, TSH ve çinko düzeyleri preop ve postop 7. ve 14. günlerde ölçülmüştür. Deney süresince ağırlıkları 210-340 gr (ort.215±34gr) olan ratlar beşerli gruplar halinde kafeslerde tutularak standart pellet yem ve şehir içme suyu ile beslenmiştir. Antibiyotik profilaksisi uygulanmamıştır. 15. gün 12.5 mg/100gr dozunda Ketamin Hcl (Ketalar flc, Parke-Davis) ve 5mg/100gr Xylazine Hcl (Rompon flc, Bayer) IM anestezisi ile tüm hayvanlara unilateral orşiektomi yapıldı ve testisler bouin's solüsyonunda tespit edildi. Tespit sonrası hazırlanan parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında ince kesitler yapılarak hemotoksilen eosin ile boyandı. Preparatlar aynı kişi tarafından ışık mikroskopik olarak 100X büyütme alanında değerlendirilmiştir. İncelemede seminifer tübüller; spermatogenezis, sertoli hücre sayısı, ortalama tübül çapı yönünden interstisyum ise; ödem, leydig hücre sayısı, bazal membran kalınlığı yönünden değerlendirilmiştir. Daha sonra ratlar tedavi yöntemine göre 4 gruba ayrılmış (Tablo 1) ve gruplara,

15 günlük tedavi periyodunda;

Grup C: L-tiroxine 5µg/gün 1 ml serum fizyolojik içinde sc.

Grup D: çinko sülfat 40 mg/gün 2 ml şehir suyu ile birlikte po.

Grup E: L-tiroxine ve çinko sülfat birlikte uygulanmıştır.

16. gün tüm hayvanlara önceden anlatıldığı şekilde orşiektomi tekrarlanmıştır.

(Grup A kontrol grubu, Grup B ise hipotiroidi oluşturulan fakat tedavi verilmeyen gruptur.)

Tablo 1: Grupların dağılımı

Grup	Say	Tedavi
A	5	Kontrol
B	5	Sadece Hipotiroidi
C	5	Hipotiroidi+L-tiroksin
D	5	Hipotiroidi+Çinko
E	5	Hipotiroidi+L-tiroksin+Çinko

Değerlendirme yöntemleri:

Çinko analizinde atomik absorpsiyon spektrometrisi kullanıldı. 0.2-0.3 ml serum örneklerine nitrik asit/hidrojen peroksitin 1/1'lik karışımından 0.5'er ml eklenerek 30dk oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra çalkalanarak kaynatıldı ve 0.1, 0.2ml'ye tamamlandı ve spektrometrik ölçüm yapıldı.

Hormon analizinde chmiluminascance enzime immunoassay yöntemi (Cib Coring HSC-180 analizatör), istatistiksel analizde ise student-t test posthoc scheffe yöntemi kullanılmıştır

BULGULAR

PTU uygulanan ratların serum T3, T4 ve çinko seviyeleri kontrol grubuna oranla düşerken, serum TSH düzeyi yükselmiştir. Sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p>0.001). Hi-

potiroidi oluşturulduktan sonra tedavi verilmeyen grup B'deki ratların deney sonrası serum T3, T4, TSH, çinko değerleri deney öncesi ile karşılaştırıldığında aradaki farkın anlamlı olmadığı ($p>0.005$), grup A ile karşılaştırdığımızda ise aradaki farkın anlamlı olduğu görüldü ($p<0.001$).

Postoperatif 7. ve 15. günlerde L-tiroxine verilen C ve E grubunu ratların serum hormon konsantrasyonları kontrol grubuna yakın bulunmuştur, sadece çinko verilen D grubu ratlarda anlamlı bir değişiklik yoktu ($p<0.001$). Bu bulgular tek başına çinko tedavisinin tiroid fonksiyonları üzerinde bir etkisi olmadığını ifade ediyordu. Tedavi sonrası grup A ve B'nin serum çinko düzeyleri karşılaştırıldığında serum çinko düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p<0.001$). Grup B ile karşılaştırılan grup C, D ve E'nin serum çinko düzeyleri daha yüksek bulundu. Ancak bu yükselme C ve D grubunda istatistiksel olarak anlamlı değilken ($p>0.05$), grup E'de anlamlı bulundu ($p<0.001$) ve kontrol grubu seviyesine ulaşmıştı. Bu sonuç bize hipotiroidide serum çinko seviyesini düzeltmekte en iyi sonucun, hormon replasmanı ve oral çinko sağaltımı ile elde edilebileceğini göstermekteydi. (Tablo 2).

Tablo 2: Deney hayvanlarında postop 7. ve 15. günlerde T3, T4, TSH ve serum çinko (Zn) değerleri (Ortalama $\pm$ SD)

Grup	Gün	T4(ug/dl)	T3(ng/dl)	TSH(uU/dl)	Serum Zn(ug/ml)
A	Postop 7. Gün	5.8 $\pm$ 0.3	48 $\pm$ 11	54 $\pm$ 8	1.82 $\pm$ 0.03
A	Postop 15. Gün	5.6 $\pm$ 0.8	59 $\pm$ 7	37 $\pm$ 5	1.75 $\pm$ 0.05
B	Postop 7. Gün	1.7 $\pm$ 0.1	19 $\pm$ 3	242 $\pm$ 32	1.24 $\pm$ 0.04
B	Postop 15. Gün	2.1 $\pm$ 0.2	23 $\pm$ 5	202 $\pm$ 29	1.28 $\pm$ 0.03
C	Postop 7. Gün	4.9 $\pm$ 0.6	39 $\pm$ 9	64 $\pm$ 4	1.27 $\pm$ 0.05
C	Postop 15. Gün	5.1 $\pm$ 1.2	46 $\pm$ 4	96 $\pm$ 7	1.37 $\pm$ 0.07
D	Postop 7. Gün	1.9 $\pm$ 0.8	21 $\pm$ 3	225 $\pm$ 4	1.39 $\pm$ 0.05
D	Postop 15. Gün	2.3 $\pm$ 0.7	20 $\pm$ 7	296 $\pm$ 11	1.44 $\pm$ 0.03
E	Postop 7. Gün	5.2 $\pm$ 1.0	48 $\pm$ 12	37 $\pm$ 3	1.43 $\pm$ 0.02
E	Postop 15. Gün	6.4 $\pm$ 0.5	55 $\pm$ 11	42 $\pm$ 7	1.91 $\pm$ 0.03

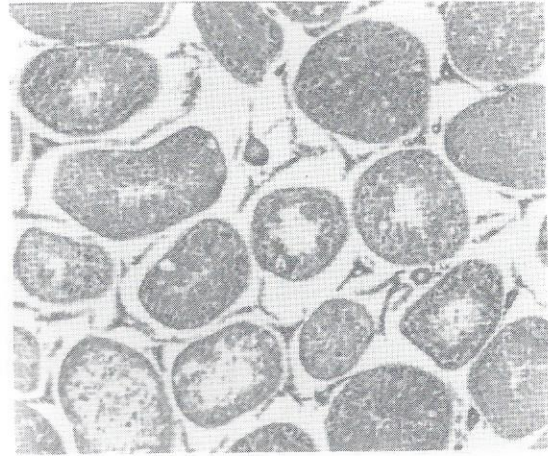
Histopatolojik Değerlendirme

PTU'nun testis üzerine etkisi histolojik olarak gösterilmiştir. (Tablo 3).

Tablo 3: Grupların testislerinin histopatolojik değerlendirme sonuçları

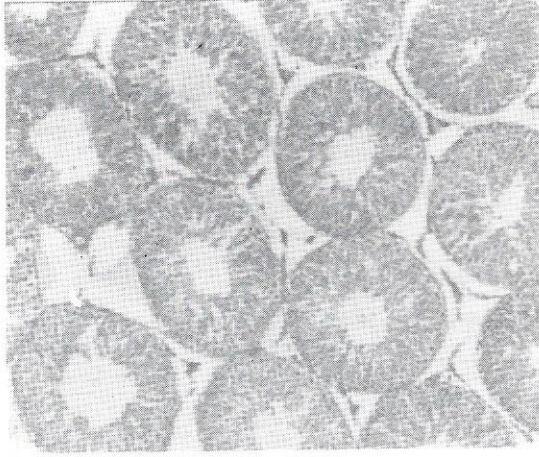
GRUP	Seminifer	Tübüller			İnteristiyum	
	Spermatogenezis	Sertoli hücresi	Ortalama tübül çapı	ödem	Leydig hücresi	Bazal membran
A	normal	normal	272.2	yok	normal	normal
B	matürasyon arresti (Sp I)	azalmış	195	var	belirgin azalma	minimal kalınlaşma
C	normal	normal	241.65	minimal	hafif azalma	normal
D	normal	azalmış	217.3	minimal	azalmış	normal
E	normal		252.05	minimal	normal	minimal kalınlaşma

Hipotiroidik grupta (Grup B): Seminifer tübülüs boyutlarında küçülme, lümenal daralma, germinal tabakada inceltme spermatosit 1 evresinde duraklama ve interstisyel ödem izlendi (Resim 1).



Şekil 1. Hipotiroidik rat testisi HEX100

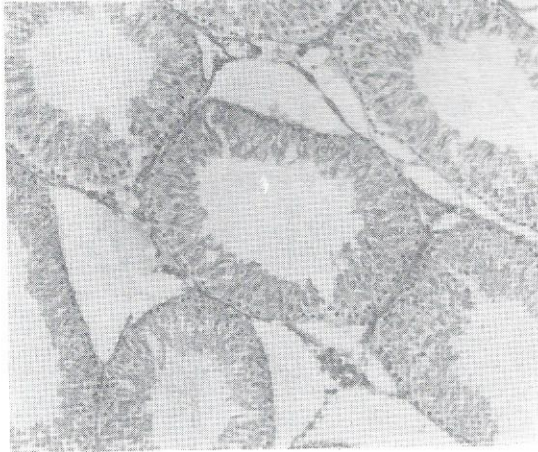
Tedavi grubunda (Grup C): Seminifer tübül boyut ve lümeninde genişleme, germinal tabakada kalınlaşma ve interstisyel ödemde azalma vardı. Spermatogenezis çoğunlukla spermatosit evresinde idi (Resim 2).



Şekil 2. L-tiroksin alan C grubu rat testisi HEx100

Grup D'nin bulguları hipotiroidik grup bulguları ile grup C arasında bir değerde idi.

Grup E'de ise histopatolojik bulgular kontrol grubunda olduğu gibi idi (Resim 3). Semifer tübül boyutları normal olup, spermatogenezise ait tüm hücreler mevcuttu. Leydig hücreleri normal sayıda idi. Tedavide en iyi sonuç çinkonun testis fonksiyonları üzerinde olası pozitif etkisini vurgulayan grup E'de elde edildi.



Şekil 3. L-tiroksin+çinko tadı alan E grubu rat testisi HEx100

Sonuç

1- Hipotiroidide serum çinko düzeylerinde belirgin azalma olmaktadır.

2- Hipotiroidinin spermatogenezisi olumsuz etkilemesinde çinko eksikliğinin de rolü vardır.

3- Yalnız L-tiroxine ile hipotiroidi tedavisi spermatogenezisi ve serum çinko seviyesini düzeltmekte ancak tam normal düzeye ulaştırılmamaktadır.

4- Tek başına çinko tedavisi tiroid fonksiyonları üzerinde etkili bulunmamıştır.

5- Hipotiroidinin spermatogenezis üzerindeki etkisinin tedavisinde en etkili yöntem L-tiroxine ve replasman tedavisi ile sağlanmıştır.

TARTIŞMA

Hipotiroidide testis histolojisinin bozulduğu ve dolayısıyla spermatogenezisin etkilendiğini bildirir yayınlar vardır.^{1, 2, 5, 6} Çeşitli eser elementlerin metabolizması hormonlar tarafından etkilenmekte bunlardan biri olan çinkonun metabolizması da hipotiroidide bozulmakta, serum ve üriner çinko konsantrasyonları azalmaktadır.⁷ Olgunlaşmanın son döneminde spermin içinde yeterli çinkonun bulunması spermatogenezin sürdürülmesi ve germinal epitelin canlılığının devamı için vazgeçilmezdir. Adrenalektominin testis üzerine etkisine yönelik bir çalışmada, saptanan yüksek çinko ve bakır düzeylerinin kan-testis bariyeri yetersizliği veya germinal epiteldeki hücre ölümü sonrası artmış ödem sıvısıyla oluşabileceği öne sürülmüştür.⁸

Literatürde hipotiroidide L-tiroxine ve çinko tedavisinin birlikte testis fonksiyonları üzerine etkisini gösteren başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. PTU ile oluşturulan deneysel hipotiroidinin varlığı, serum TSH konsantrasyonlarında yükselme, T3 ve T4 konsantrasyonlarında düşmenin saptanması ile doğrulanmıştır. Histopatolojik olarak çalışmamızda saptanan testiküler atrofi ve spermatogenezis yetersizliği sonuçlarımız, literatür ile uyumludur. Özellikle E grubu ratlarda tedavi sonrası testis morfolojisinde düzelme belgindi. Ancak replasman tedavisinin testis fonksiyonlarını geri döndürücü etkisinin mekanizması bilinmemektedir ve hücresel düzeyde daha ileri araştırmaların gerekliliği ortadadır.

PTU uygulanan yenidoğan ratların testislerinin yaklaşık iki misli büyüdüğü ve sperm üretiminin arttığı, bunun sertoli hücrelerinin gecikmiş

matürasyonu sonucu olduğu gösterilmiş ve bunun yaklaşık 15. Gün sonlanan sertoli hücre bölünmesinin gecikmesiyle olduğu ileri sürülmüştür.^{9, 10} Chan ve arkadaşları farelerde oluşturdukları neonatal hipotiroidide, seminifer tübül sayısında azalmayı göstermişler ancak fertilité ve testis histolojisinde bozulma saptamamışlardır. Sonuç olarak üremeyi etkilemediği sonucuna varmışlardır.¹¹ Çalışmamız deneysel hipotiroidide matür rat testislerinin histolojisi ve spermiogenezdeki anlamlı değişiklikleri ortaya koymuş ve tedavi ile bu bulgulardaki düzelmeyi göstermiştir. Sonuçlarımız literatür ile uyumlu bulunmuştur. İki aşamalı olarak gerçekleştirilen çalışmamızda her iki testisin histopatolojik değerlendirme nedeniyle alınması, fonksiyonel sonuçları değerlendirmeye imkan vermemiştir. Ancak hipotiroidik erkek ratların replasman tedavisi öncesi ve sonrasında ötiroid dişi ratlarla çiftleştirilip gebelik oranlarının belirlenmesine yönelik çalışmalarla, testis patolojisinin üremeye olan etkisinin değerlendirilmesi daha anlamlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- 1- Utiger RD, Thyroid disease, Felis P, Baxter JD, Frohman LA, Endocrinology and Metabolism, Third edition, Mc Graw Hill Inc, New York UŞA 10; 435-519, 1995.
- 2- Staub JJ, Althaus BU, Engler H, Trabucco P, et al, Spectrum of subclinical and overt hypothyroidism, effect on thyrotropin, prolactin and thyroid reserve and metabolic impact on peripheral target tissues, Am J Med, 92(6): 355-362, 1992.
- 3- Bedwal RS- Bahuguna A: Zinc, copper and selenium in reproduction, Experientia 50(7): 626-640, 1994.
- 4- Lebondel G, Le Bouil A, Allain P: Influence of thyroparathyroidectomy and thyroxine replacement on Cu and Zn cellular distribution and on the metallothionein level and induction in rats. Bio Trace Element Research 32: 281,288, 1992.
- 5- Palmero S, Prati M, Bolla F, Fugassa E: Tri-iodo thyronine directly effects rat Sertoli cell proliferation and differentiation, J Endocrinol, 145(2): 355-362, 1995.
- 6- Mesami E, Najafi A, Timiras PS: Enhancement of seminiferous tubular growth and spermatogenesis in testes of rats recovering from early hypothyroidism, a quantitative study, Cell Tissue Res, 275(3): 503-511, 1994.
- 7- Dolev E, Patricia A, Solomon B: Alterations in magnesium and zinc metabolism in thyroid disease, Metabolism, 37(1): 61-67, 1988.
- 8- Nair N, Bedwal RS- Mathur RS.: Effect of adrenalectomy and adrenalectomy and adrenalectomy+hydrocortisone treatment on histopathological, biochemical and zinc and copper profiles in rat testes. Indian. J. Exp. Bio. Sep; 33(9): 655-663, 1995.
- 9- Cooke PS, Porcelli J, Hess RA: Induction of increased testis growth and sperm production in adult rats by neonatal administration of goitrogen propylthiouracil (PTU): the critical period. Biol. Reprod. Jan; 46(1): 146-154, 1992.
- 10- De Franca LR, Hess RA, Cooke PS, Russel LD.: Neonatal hypothyroidism causes delayed Sertoli cell maturation in rats treated with propylthiouracil: evidence that Sertoli cells control testis growth. Anat-Rec. May; 24(1): 57-69, 1995.
- 11- Chan WY, Nig TB: Effect of hypothyroidism induced by propylthiouracil and thiourea on male and female reproductive systems of neonatal mice. J. Exp. Zool. Oct. 1; 273(2): 160-169, 1995.