

CISPLATIN'IN TESTİS DOKUSUNA ETKİSİ: ULTRASTRÜKTÜREL VE BİYOKİMYASAL BİR ÇALIŞMA

Uz. Dr. Adnan AYDINER (*), Prof. Dr. Yener AYTEKİN (**), Uz. Dr. Ümit SAYIN (***),
Uz. Dr. Leyla KUNTSAL (**), Prof. Dr. Erkan TOPUZ (*)

ÖZET: Antikanser bir ilaç olan cisplatinin testisin morfolojik yapısında oluşturduğu değişiklikler ve bu değişikliklerin hormon düzeyleri ile olan ilişkileri yetişkin sıçanlarda çalışılmıştır. Sıçanlarda tek doz (5 mg/kg) cisplatin kullanımı ile periferik kanda 3. ve 21. günlerde testosteron düzeyi düşmüş, LH düzeyi ise yükselmiştir. Testiste üçüncü günden itibaren morfolojik olarak belirgin germinal epitel bozuklukları oluşmuştur. Ultrastrüktürel incelemede Leydig ve Sertoli hücrelerinde endoplazmik retikulum dilatasyonları ve inklüzyon cisimciklerinde artma gözlenmiştir. Sertoli hücreleri arasındaki kan testis bariyerinin bozulmadığı, buna karşılık, germinal hücreler arasındaki ve germinal hücre-Sertoli hücresi arasındaki ilişkilerin bozulduğu gözlenmiştir. Bu değişiklikler hormonal değişimler ile uyumlu bulunmuştur. Dört hafta sonra morfolojik bulgularda belirgin düzelme saptanmıştır. Cisplatinin membran yapılarında, mitokondriyalarda ve endoplazmik retikulumda oluşturduğu değişikliklerin Leydig hücrelerindeki fonksiyon bozukluğunu açıklayabileceği, moleküler düzeyde yapılacak incelemeler ile bu konunun ayrıntıları ile çalışılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

ANAHTAR KELİMELE: Cisplatin, sıçan, testis, hormon, ultrastrüktür.

SUMMARY: The morphologic effects of the anti-cancer drug cisplatin on the testis and the interactions of these changes with serum hormone levels were studied in adult rats. With the use of single dosage (5 mg/kg) of cisplatin testosterone levels in the peripheral blood on the 3rd and 21th days were decreased and LH levels were increased. After the third day, significant germinal epithelium damage was detected morphologically. Ultrastructurally, in Leydig and Sertoli cells, endoplasmic reticulum dilatations and increase of inclusion bodies were detected. Although blood-testis barriers between Sertoli cells was normal, the relationship between germinal cells and germinal cell-Sertoli cell was disturbed. These changes were compatible with hormone levels. The changes were found to be reversible after four weeks. It is concluded that the effects of cisplatin on membrane structures, mitochondria and endoplasmic reticulum can explain the Leydig cell dysfunction and this subject must be studied further thoroughly.

KEY WORDS: Cisplatin, rat, testis, hormone, ultrastructure.

GİRİŞ

Cisplatin malign tümörlerde kullanılan en önemli ilaçlardan birisidir. Bu ilacın tek doz kullanılmasıyla sonra testis dokusundaki toksisitesinin araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma vardır. Cisplatinli rejimler testis tümörlü hastaların çoğunda kalıcı remisyonlara yol açmaktadır (12). Buna karşılık cisplatin kombinasyonları ile uzun süreli yan etkilerden birisi sterilitedir (8). Tümörlü hastalarda sürvinin uzaması fertilitite sorununu gündeme getirmiştir (14). Genellikle fertilitenin tedaviden sonra geriye dönebildiği belirtilmektedir (13). Yapılan araştırmalarda fertilitite potansiyelinin klinik inceleme (testis büyüklüğü ve kıvamı) veya gonadotropin ve testosteron düzeyleri ile belirlenemeyeceği belirtilmektedir (4). İlaçların dozları ile üreme potansiyeli arasındaki korrelasyonların belirlenmesinde ek çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu amaçla cisplatinin normal dokulardaki sitotoksik mekanizmalarının ayrıntılı olarak araştırılması gerekir.

Bu çalışmada, sıçanlarda tek doz cisplatin uygulamasının ilk 4 hafta içinde testis dokusunda yaptığı değişiklikler ışık ve elektron mikroskopisi ile araştırılmış ve bulunan değişikliklerin serum hormon düzeyleri ile ilişkileri incelenmiştir. Cisplatinin normal dokulardaki toksik etki mekanizmaları henüz tam olarak açıklanamadığı için özellikle Leydig hücrelerindeki ultrastrüktürel değişiklikler serum testosteron ve gonadotropin düzeyleri ile birlikte değerlendirilerek cisplatinin toksisite mekanizmaları araştırılmaya çalışılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Materyaller:

37 C'de su banyosu (Braun Thermomix), Vorteks çalkalayıcı (Vortey Genie), santrifüj (MSE), gamma sayıcısı (Ab-

bott ANSR), otomatik pipetler (Oxford), Jeol 100 C ve Zeiss 2 S elektron mikroskopu ile Leitz ışık mikroskopları kullanılmıştır. Histolojik ve elektronmikroskopik doku örnekleri İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim dalındaki imkanlar ile hazırlanmıştır.

Hayvanlar ve Uygulama:

Yirmidört yetişkin erkek Sprague-Dawley sıçanları (310-330 g ağırlıklarında) aynı ortamda, aynı besinlerle beslenecek deney öncesinde hazırlanmışlardır.

21 sıçana 5 mg/kg cisplatin (Cis-Platinum, Atabay) sulandırılarak (2.5 ml suda) intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Üç kontrol sıçana aynı miktarda distile su i.p. olarak verilmiştir. Hayvanlardan uygulama öncesi intrakardiyak olarak testosteron ve gonadotropin düzeyleri için kan alınmıştır. Kanlar saat 15-15.30 arasında alınmıştır.

3., 12., 21. ve 28. günlerde üçer sıçan ışık ve elektron mikroskopik inceleme için dekapite edilmiştir. 3. ve 21. günlerde hormon düzeyleri için intrakardiyak olarak aynı saatlerde kan alınmıştır.

Dokuların Işık ve Elektronmikroskopi İncelemesi İçin Hazırlanması:

Hayvanlar ether anestezisi altında dekapite edilmişler ve testisleri çıkarılmıştır.

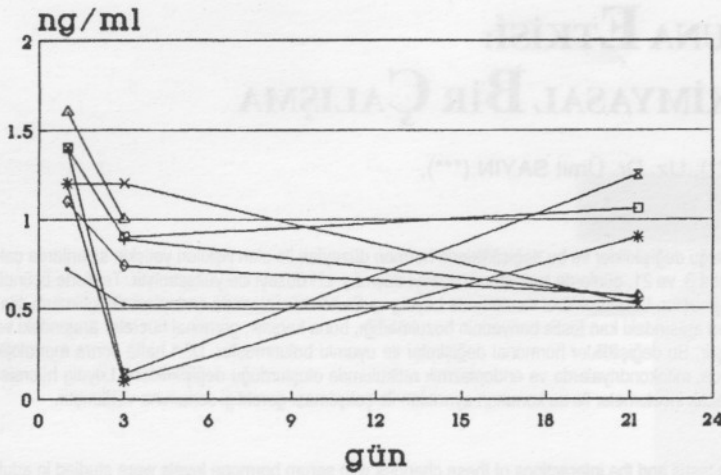
Işık mikroskopisi: Testisler Bouin solüsyonu içine alınmıştır. Alkol ile suları giderilip Toluolde şeffaflandırdıktan sonra parafine gömülmüşlerdir. Kesitler Hematoxylen-eosin, periodik asit schiff (PAS) ve PAS-Haemalaun boyaları ile boyanmıştır.

Elektron mikroskopisi: Plade (1952) metodu modifiye edilerek kullanılmıştır. Testisler izotonik içinde küçük parçalara ayrıldıktan sonra % 2.5'luk tamponlu gluteraldehid içinde tesbit edilmiştir. Daha sonra purifikasyon için % 1'lik OsO₄ içinde tesbit edilmiş ve suları asetonla giderilerek Vestopal'a gömülmüşlerdir. Vestopal bloklarından, LKB mikrotomunda kalın ve ince kesitler hazırlanmıştır. Önce 1 mikron kalınlığında ışık mikroskopu tetkiki için alınan kesitler,

* İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı

** İstanbul Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı

*** İstanbul Üniversitesi, Deneyel Tıp Araştırma Merkezi



Şekil 1: Sıçanlarda plazma testosteron düzeyleri.

Giemsa ile boyanıp tetkik edilmiş ve uygun görülen kısımlardan 400-700 angstrom kalınlığında ince kesitler alınarak uranyl asetat (% 0.5 sulu solusyona) ile kurşun sitrat kontrastlanmalarına tabi tutulmuş, kurutulmuş ve JEOL 100 C ve Zeiss 2 S elektron mikroskoplarında incelenmiş ve resimlendirilmiştir.

Testosteron ve LH Analizleri:

Plazma testosteron ve LH düzeyleri radioimmünassay metodu kullanılarak çalışılmıştır.

Heparinli enjektörle alınan kan tüpe koyularak santrifüj edilmiş ve plazması ayrılmıştır. Hemolizsiz olarak hazırlanan bu örnekler tetkikin yapılacağı güne kadar -20 C'de saklanmış ve en geç bir ay içinde çalışılmıştır. Testosteron "solid-phase" 125I radioimmünassay ile, LH "double-antibody" 125I radioimmünassay ile (Diagnostic Product Corporation, 5700 West 96th street, Los Angeles, CA 90045, USA) kantitatif olarak çalışılmıştır. Sonuçlar özel bilgisayar programı ile analiz edilmiştir.

İstatistiksel analiz:

"İki eş arasındaki farkın önemlilik testi" uygulanmıştır. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak yazılmıştır.

SONUÇLAR

Cisplatinin plazma testosteron düzeyine (ng/ml) etkisi:

Sıçanlarda (n=9) plazma testosteron düzeyleri Şekil 1'de gösterilmiştir. 3. günde plazma testosteron düzeyi % 46 daha düşüktür (0. gün = TO: 1.23 ± 0.28 ; 3. gün = T3: 0.66 ± 0.42 ; $p < 0.05$). 21. günde 0. güne göre düşüklük % 31'dir (TO: 1.17 ± 0.25 ; T21: 0.81 ± 0.31 ; $p < 0.05$). 3. ve 21. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır (T3: 0.64 ± 0.41 ; T21: 0.77 ± 0.30 ; $p > 0.05$).

Cisplatinin Plazma LH Düzeyine (mIU/ml) Etkisi:

Sıçanlarda (n=9) plazma LH düzeyleri Şekil 2'de gösterilmiştir. 3. günde 0. güne göre plazma

düzeyi % 102 artmıştır (LH 0: 1.41 ± 0.93 ; LH 3: 2.85 ± 1.88 ; $p < 0.05$). 21. günde bu yükseklik devam etmektedir ve 0. güne göre % 154 oranında artma vardır (LH 0: 1.46 ± 0.99 ; LH 21: 3.71 ± 0.98 ; $p < 0.05$). 3. ve 21. günler arasında ise fark bulunamamıştır (LH 3: 2.79 ± 2.02 ; LH 21: 3.71 ± 0.98 ; $p > 0.05$).

Cisplatinin Plazma LH/Testosteron Oranlarına (LH/T) Etkisi:

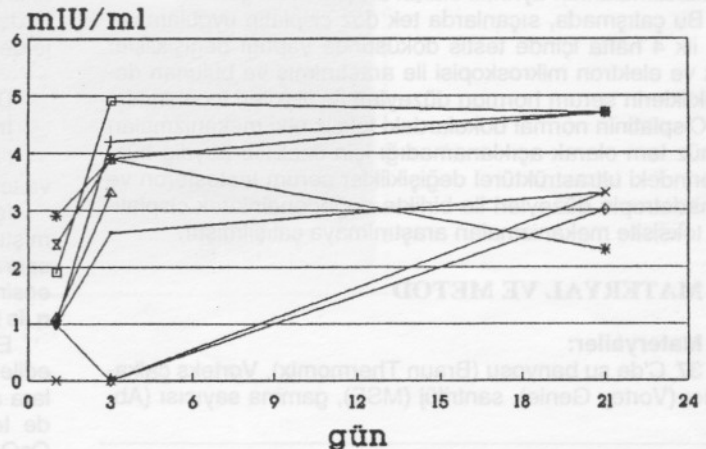
Sıçanlarda LH/T oranları Şekil 3'de gösterilmiştir. 3. günde 0. güne göre oranda istatistiksel farklılık görülmemiştir (LH/T 0: 1.09 ± 0.8 ; LH/T 3: 10.67 ± 14.52 ; $p > 0.05$). Buna karşılık 21. günde 0. güne göre orandaki artma istatistiksel olarak anlamlıdır (LH/T 0: 1.15 ± 0.84 ; LH/T 21: 5.26 ± 1.9 ; $p < 0.05$). 3. ve 21. günlerde ise oranlar arasında farklılık bulunmamıştır (LH/T 3: 11.72 ± 15.35 ; LH/T 21: 5.256 ± 1.9 ; $p > 0.05$).

Işık ve Elektronmikroskopi Bulguları:

Kontrol grubu hayvanların ve cisplatin uygulanan hayvanların ışık ve elektronmikroskopi bulguları Tablo 1 ve 2'de özetlenmiştir. Üçüncü günde belirgin olarak gözlenen ultrastrüktürel bozuklukların 12. ve 21. günlerde devam ettiği ve 28. günde büyük oranda normale döndüğü gözlenmiştir (Resim 4-9).

TARTIŞMA

Bu çalışmada sıçanlara tek doz 5 mg/kg cisplatin verilmesi 3. ve 21. günlerde plazma testosteron düzeyinde belirgin düşmeye ve LH düzeyinde ise yükselmeye neden olmuştur. Hormon düzeylerindeki bu değişiklikler ışık ve elektron mikroskopisinde saptanan değişiklikler ile uyumlu bulunmuştur. Leydig hücre membranlarında ve mitokondriyalarda saptanan değişiklikler bu hücrelerdeki fonksiyon bozukluğunu açıklamakta ve cisplatinin hormon düzeylerinde meydana getirdiği değişikliklerin ilacın testiküler toksisitesine bağlı olduğunu düşündürmektedir. 28. günde histolojik bulgulardaki düzelme cisplatinin testis dokusunda oluşturduğu değişikliklerin geri dönüşlü olduğunu göstermiştir.



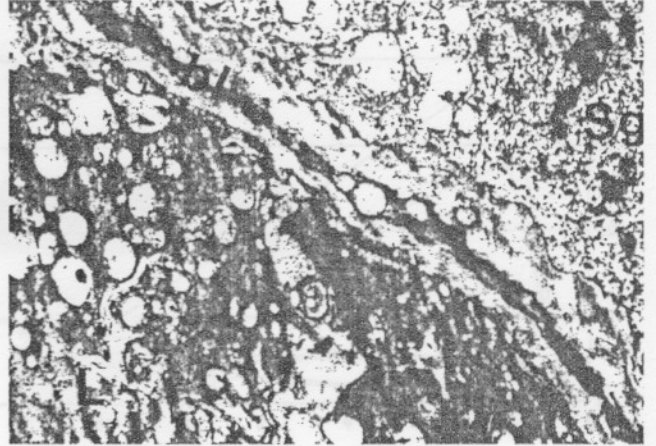
Şekil 2: Sıçanlarda plazma LH düzeyleri.



Resim 1: Cisplatin uygulamasından 3 gün sonra; endoplazmik retikulum dilatasyonları (D), lipofuskin inklüzyonu (L) görülmektedir. Sertoli hücreleri arasında yer alan ve kan-testis bariyerini sağlayan "junctional complex" (J) bozulmamıştır (Uranill asetat-kurşun sitrat x 6100).

Çalışmada kullanılan cisplatin dozu insanlara verilen tedavi edici dozun 1.-3 katı kadardır. Özellikle plazma hormon düzeylerine etki edebilmek için yeterli eşik dozun gerektiği düşünülmüştür. Bu doz sıçanlarda mikrozomal düzeyde değişiklik için yeterli olmaktadır (6). Uygulanan doz sıçanlardaki LD50'nin (9 mg/kg) altındadır (1). Bilindiği gibi plazma testosteron ve gonadotropin düzeyleri gün içinde değişim göstermektedir (2,3). Bu nedenle hayvanlardan günün aynı saatinde kan alınmış ve testosteron/LH oranları da değerlendirilmiştir.

Sıçanlara cisplatin verilmesi ile gonadotropinler ve steroid hormonlarda hızlı bir artışın olduğu daha önce rapor edilmiştir (6,10). Bu etkinin mekanizmaları halen tam olarak bilinmemektedir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada cisplatin ile tedavi edilen sıçanlarda hipofizer FSH ve LH düzeyleri yüksek bulunmuş ve "gonadotropin releasing hormon" verilmesi ile FSH ve LH düzeyleri daha yükselmiştir (10). Bu çalışmadaki FSH ve LH değişiklikleri azalan testosteron düzeyine bağlı olabilir. Testis kanseri olan hastalarda cisp-



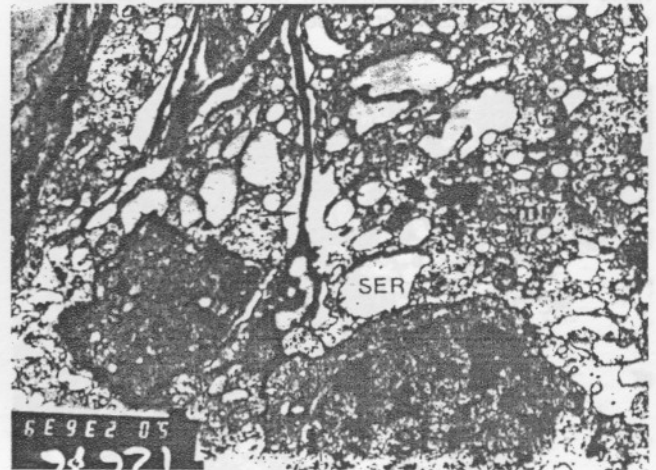
Resim 2: Cisplatin uygulamasından 3 gün sonra; Leydig hücresi (L), spermatogonium (Sg) ve bazal lamina (BL) görülmektedir (Uranill asetat-kurşun sitrat x 6100).

latin tedavisi sonrası hormonal değişikliklerin incelendiği bir araştırmada, LH ve testosteron düzeylerinde önemli bir değişiklik olmamasına rağmen, selektif olarak FSH düzeyi yüksek bulunmuştur (7). Bu bulgu cisplatinin hipotalamus üzerinden de etkili olabileceğini düşündürmektedir. Cisplatinin hipotalamus veya hipofiz üzerinden etki ederek LH sekresyonunu azalttığı ve testiste biyosentez için gerekli olan gonadotropin stimülasyonunu ortadan kaldırdığı öne sürülmüştür (6,9). Çalışmacılar cisplatinin neden olduğu serum testosteron düzeyindeki düşmenin GnRH ile geriye dönebildiğini göstermişlerdir. Böylece ilacın testise veya testiküler hormon metabolizmasına değil, hipotalamus düzeyinde etkili olduğu sonucuna varmışlardır. Ancak, GnRH veya HCG ile testosteron supresyonunun geriye döndürülmesi, tedavi edilmiş olan hayvanlarda testisin LH'ya yanıtı normal ise, sadece LH stimülasyonunda bir eksiklik olduğunu düşündürmektedir. Yine, cisplatin etkisinin suprafizyolojik LH dozlarında (GnRH tedavisi gibi) değişmesi LH'ya testiküler sen-

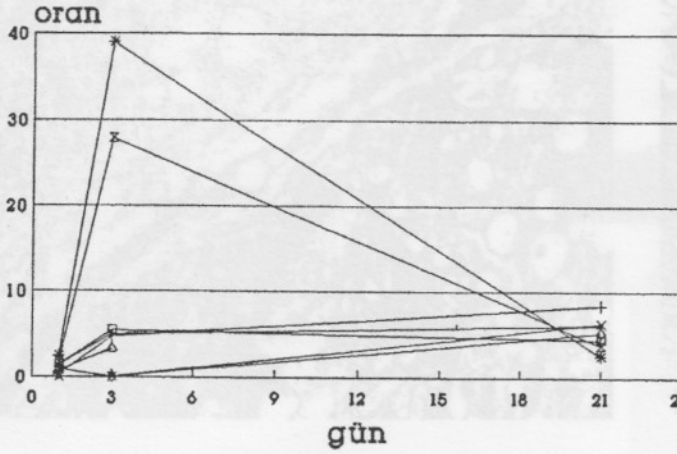
TABLO 1: CİSPLATİN UYGULAMASI SONRASINDA 3., 12., 21. VE 28. GÜNLERDE KESİLEN SIÇAN TESTİSLERİNİN IŞIK MİKROSKOPİ BULGULARI

	Kontrol	3.g	12.g	21.g	28.g
Germinal epitelde bozulma	-	+	+	±	-,*
Germinal hücrelerde dökülme	-	+	+	±	-
Germinal hücreler arasında ilişki bozuklukları	-	+	+	+	-
Germinal hücre kat sayısında azalma	-	+	+	±	-
Sertoli hücre yapısında bozulma	-	+	+	+	-
Leydig hücre yapısında bozulma	-	-	-	-	-
İnterstisiyel yapıda bozulma	-	-	-	+	-

-: Yok, +: Var, ±: Düzeltme var, *: Nadir bozukluklar var.



Resim 3: Cisplatin uygulamasından 12 gün sonra; Sertoli hücresi (S) ve spermatosit (St), lipid (Li), lipofuskin inklüzyonları (L), genişlemiş endoplazmik retikulumlar (SER) görülmektedir. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı birleşme komplekslerinin (junctional complex) (J) bozulmamış olduğu görülmektedir (Uranill asetat-kurşun sitrat x 6100).

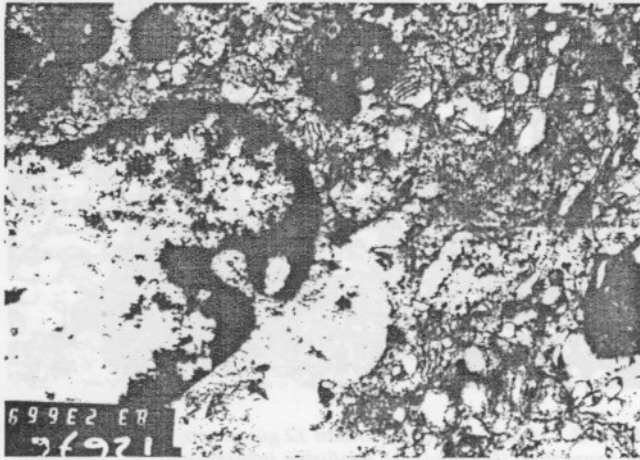


Şekil 3: Sıçanlarda plazma LH/Testosteron düzeyleri.

sitivitenin normal olduğunu göstermez. Bu düşüncüyü destekleyen bir çalışmada, cisplatine bağlı serum testosteron düşüklüğünün, sıçan testislerindeki LH reseptörlerinin ve cytochrome P-450'nin depresyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir (10). Azouri ve ark. sıçan testislerinde mikrozomal P-450 konsantrasyonunda benzer azalmayı rapor etmişlerdir (1). Bu azalma ile birlikte plazma testosteron düzeyleri de düşük bulunmuştur.

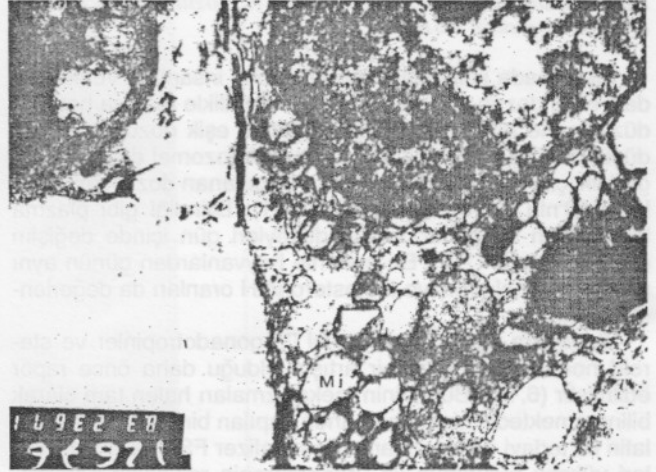
Bu çalışmada 3. ve 21. günlerde plazma testosteronundaki azalma ile birlikte LH düzeylerinde belirgin bir yükselme görülmüştür ($p<0.05$). Testosteron ve LH düzeyleri arasındaki oran karşılaştırılınca benzer sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 1-3). Bu bulgular LH düzeyindeki artışın testosteron düşüşüne bağlı olduğunu desteklemektedir. Ultrastrüktürel incelemede Leydig hücrelerinde gözlenen değişiklikler hormonal değişikliklerin primer olarak testisteki toksisiteye bağlı olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmada ışık mikroskopisinde 3. günde germ hücrelerinde belirgin hasar görülmüştür. 12. ve 21. günlerde bu hasarın devam ettiği 28. günde ise düzelme olduğu görülmüş-



Resim 4: Cisplatin uygulamasından 12 gün sonra; Leydig hücrelerinin görünümü. Endoplazmik retikulumlarda dilatasyon ve intrastoplazmik inklüzyonlar belirgin olarak görülmektedir (Uranil asetat-kurşun sitrat x 10140).

tür. Sertoli hücreleri ve Leydig hücrelerinde ışık mikroskopide önemli bir değişiklik bulunamamıştır. Ultrastrüktürel düzeyde yapılmış çok sınırlı sayıda çalışma olması nedeni ile (5,11), testis fonksiyonlarındaki değişim bu çalışmada elektron mikroskopik olarak da araştırılmıştır. Ultrastrüktürel incelemede Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantı komplekslerinin bozulmadığı görülmüştür (Resim 1,3). Ayrıca Sertoli hücrelerinde görülen SER dilatasyonları ve lipid, lipofuskin inklüzyonlarındaki artma (Resim 1,5,6), Sertoli hücrelerinin katılmış olduğu steroid biyosentezinin etkilenmesinin morfolojik bulguları olarak değerlendirilmiştir. İnteristisyumda yer alan Leydig hücrelerinde sitoplazmik lipid inklüzyonlarındaki artma, endoplazmik retikulumda dilatasyonlar, mitokondriyalarda ve membranlarda yapısal bozukluklar gözlenmiştir (Resim 2,4). Leydig hücrelerinde görülen artmış lipid inklüzyonları, bozulmuş mitokondri kristalleri ve matriks kaybı bulguları ile birleştirilince, testosteron biyosentezinin ve salgı-



Resim 5: Cisplatin uygulamasından 21 gün sonra; mitokondrilerin (Mi) kristallerinde kenara doğru çekilmeler ve matrikste kayıplar görülmektedir (Uranilasetat-kurşun sitrat x 10140).



Resim 6: Cisplatin uygulamasından 28 gün sonra; Sertoli hücrelerindeki sitoplazmik inklüzyonların fazla olduğu görülmektedir (Uranil asetat-kurşun sitrat x 6100).

TABLO 2: CİSPLATİN UYGULAMASI SONRASINDA 3., 12., 21. VE 28. GÜNLERDE KESİLEN SIÇAN TESTİSLERİNİN ELEKTROMİKROSKOPİ BULGULARI

	Kontrol	3.g	12.g	21.g	28.g
Sertoli hücresi					
SER dilatasyonları	-	+	+	±	-
Lipid ve lipofuskin inklüzyonlarında artma	-	+	+	±	±
Mitokondriya yapısında bozulma	-	+	+	±	-
Sertoli-Germinal hücre ilişkisinin bozulması	-	+	+	±	-
Sertoli-Sertoli hücre ilişkisinin bozulması (kan-testis bariyeri)	-	-	-	-	-
Leydig hücresi					
SER dilatasyonları	-	+	+	±	-
Lipid ve lipofuskin inklüzyonlarında artma	-	+	+	±	-
Mitokondriya yapısında bozulma	-	+	+	±	-
Germinal hücreler arasında ilişki bozukluğu	-	+	+	±	-

SER: Düzgün yüzeyli endoplazmik retikulum. -: Yok. +: Var, ±: Düzeltme var.

lanmasının düşmüş olduğuna dair biyokimyasal bulgularla paralellik gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu bulgular steroid biosentezi ile ilgili organeller olan mitokondri ve endoplazmik retikuluma ait değişikliklerin bu deney hayvanlarındaki hormonal değişimlere neden olabileceğini düşündürmektedir.

Spermatogenez süresince germinal hücreler Sertoli hücreleri ile devamlı ilişki halinde pasif olarak bazalden-lümen doğru ilerler. Bu spermiyasyon olayında Sertoli hücrelerinin önemli bir katkısı vardır. Sertoli hücreleri endoplazma retikulumu ve miyofibril yapıları ile kasılma-gevşeme hareketi yaparak olgunlaşma süreci içindeki germinal hücreleri (spermatidleri) lümeneye taşıırken membran ilişkisinin sağlıklı olmasını da sağlar. Sertoli hücrelerinde membran bozulduğunda, bu ilişki bozulacağından, deneyimizde olduğu gibi germinal hücreler olgunlaşmadan kontrolsüz olarak lümeneye dökülmüşlerdir.

Daha önce ultrastrüktürel olarak yapılan incelemelerde platinum grubu ilaçların fare karaciğer mitokondriyasında belirgin değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (11). Bu bulguların testisteki toksisite ile korelasyonunun araştırılması gerekmektedir. Araştırmacılar "elektron probe" analiz ile ilacın mitokondriyaya bağlandığını göstermişlerdir. Solunum zincirindeki kompleks I ve II aktivitesinde inhibisyon olduğu ve Tb3+ (bir kalsiyum analogu) floresansında iyonik kuvvetle bağımlı bir etkinin olduğu belirtilmiştir. Elde edilen veriler cisplatinin hücre içinde çekirdek düzeyindeki etkisi yanında mitokondriya fonksiyonunu da deprese ettiğini düşündürmektedir. Çalışmamızda bulunan Leydig hücre fonksiyon

bozukluğu ultrastrüktürel düzeyde de hücrelerde gözlenen değişiklikler ile ilgili olabilir. Bu değişikliklerin moleküler düzeyde ayrıntılı olarak incelenmesi cisplatinin normal dokulardaki toksik etkilerinin mekanizmalarına ışık tutacaktır. Elde edilecek veriler kanserli hücrelerdeki ilaç rezistansının ve normal dokulardaki toksisitenin önlenmesinde yenilikler sağlayabilecektir.

Cisplatin etkilenmesinden sonra, kan-testis bariyerinin ifade edildiği, Sertoli-Sertoli özel bağlantı komplekslerinde bozulmalar görülmemesi, bu etki ve dozun geri dönüşlü olduğunun delili olarak bulgularımızda tesbit edilmiştir. Bu sebeple, 28. günde alınan sıçan testisleri örneklerinin ışık ve elektron mikroskop seviyesinde kontrol testislere benzer morfolojiye sahip olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, cisplatinin membranlı yapılarda, mitokondriyalarda ve endoplazmik retikulumda oluşturduğu değişikliklerin Leydig hücrelerindeki fonksiyon bozukluğunu açıklayabileceği sonucuna varılmıştır. Tümörlü hastalarda yeni tedavi yöntemleri ile sürvinin uzaması ve kullanılan sitotoksik ilaçlara bağlı sterilite sorununun ortaya çıkması, gelecekte bu konuda daha ayrıntılı çalışmaların gerekli olduğunu düşündürmektedir. Yapılacak klinik ve hayvan çalışmaları bu ilaçların etki mekanizmalarına ışık tutacağı gibi, oluşacak yan etkilerin önlenmesinde yeni yöntemlerin uygulanmasına olanak sağlayabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Azouri H, Bidart JM, Bohuon C. In vivo toxicity of cisplatin and carboplatin on the leydig cell function and effect of the human choriogonadotropin. *Biochem Pharmacol* 1989; 38: 567-571.
2. Griffin JE, Wilson JD. Disorders of the testis. In: Harrison's Principles of internal medicine, 12th ed. New York: Mc Graw Hill. 1991: 1765-1776.
3. Heywood LH. Testosterone levels in the male laboratory rat: Variation under experimental conditions. In: *J Androl* 1980; 3: 519-529.
4. Jaffe N, Sullivan MP, Ried H. et al. Male reproductive function in long-term survivors of childhood cancer. *Med Pediatr Oncol* 1988; 16: 241-247.
5. Kopf-Maier P. Effects of carboplatin on the testis. A histological study. *Cancer Chemother Pharmacol* 1992; 29: 227-235.
6. Le Blanc GA, Waxman DJ. Feminization of rat hepatic P-450 expression by cisplatin. *J Biol Chem* 1988; 263: 15732-15739.
7. Le Blanc GA, Kantoff PW, Fong S, Frei E, Waxman DJ. Hormonal perturbations in patients with testicular cancer treated with cisplatin. *Cancer* 1992; 69: 2306-2310.
8. Loehrer PJ, Einhorn LH. Diagnosis and treatment. Drugs five years later: cisplatin. *Ann Intern Med* 1984; 100: 704-713.
9. Maines MD, Mayer RD. Inhibition of testicular cytochrome P-450-dependent steroid biosynthesis by cis-platinum. *J Biol Chem* 1985; 260: 6063-6068.
10. Maines MD, Sluss PM, Mumtaz I. cis-Platinum-mediated decrease in serum testosterone is associated with depression of luteinizing hormone receptors and cytochrome P-450sc in rat testis. *Endocrinology* 1990; 126: 2398-2406.
11. Rosen M, Figliomeni M, Simpkins H. The interaction of platinum antitumor drugs with mouse liver mitochondria. *Int J Exp Pathol* 1992; 73: 61-74.
12. Rožencweig M, Abele R, Von Hoff DD, Muggia FM. Cisplatin: impact of a new anticancer agent on current therapeutic strategies. *Anticancer Res* 1981; 1: 199-204.
13. Rubery ED. Return of fertility after curative chemotherapy for disseminated teratoma of the testis. *Lancet* 1983; 1: 186.
14. Sherins RJ. Gonadal dysfunction. In: De Vita, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer, principles and practice of oncology*, 4th ed. Philadelphia: JB Lippincott company. 1993: 2395-2406.