

Klomifen sitrat östrojenin rat testisleri üzerindeki yan etkilerini potansiyelize eder ve steroidogenik enzim genlerinin ekspresyonunu düşürür

Bharti S, Misro MM, Rai U.
Fertility and Sterility 2012; Sep 19

Östrojenin yetişkin testis fonksiyonlarındaki rolü oldukça önemlidir. ArKO (aromataz knockout) erkek modelinde de görüldüğü gibi östrojen yokluğunda round spermatidlerin anormal gelişimi görülebilmektedir. Bununla birlikte, farelerin gelişim sürecinde fetal veya neonatal dönemde fazla östrojene maruz kalması da kriptorşidizm, epididimal defektler, fertilitate bozuklukları ve testis kanseri gibi çeşitli erkek reproduktif sistem hastalıkları ile ilişkili olabilmektedir. Bu bilgiler yetişkinlerde testiküler fonksiyonlar ve fertilitenin normal olabilmesi için östrojenin belli bir dengede olması gerektiğini göstermektedir. Germ hücrelerinin gelişiminde gonadotropinlerin ve steroid hormonların koordineli bir şekilde çalışması çok önemlidir. Yetişkinlerde fazla östrojene maruz kalma gonadotropinlerin down regülasyonuna ve hormonal dengenin değişmesine sebep olarak germ hücrelerde apoptozisi uyarmaktadır. Klomifen sitrat (KS) hem östrojenik hem antiöstrojenik etkileri olduğu bilinen bir maddedir. Östrojen miktarının az olduğu durumlarda KS östrojenin alfa 2 reseptörlerini etkileyerek östrojen agonisti gibi, östrojen fazla olduğunda ise aynı reseptöre bağlanarak antagonist gibi davranır. Bu etkiye sahip moleküller (tamoksifen, raloksifen ve KS) selektif östrojen reseptör modülatörü (SERM) olarak adlandırılırlar. Fakat östrojenin beta reseptörlerine bağlandığında ortamdaki östrojen konsantrasyonundan bağımsız olarak antagonist gibi etki eder.

KS'in antiöstrojenik etkisi eskiden beri bilinmektedir. Fakat bunun tek başına ya da eksojen östrojenle kombine edilip verildiğinde nasıl etki ettiği hakkında yeterince bilgi yoktur. KS spermatogenezisi uyarması nedeniyle günümüzde erkek infertilitesinin tedavisinde sıkça kullanılmaktadır. Ancak KS'in erkek fertilitesi üzerinde yararlı etkileri hakkında çelişkili bilgiler mevcuttur. Bu çalışmanın amacı östrojen modülatörlerinin testiküler fonksiyonlar, germ hücre apoptozisi ve steroidogenik enzim gen ekspresyonunun eksojen östrojen varlığında etkilerini araştırmaktır.

Çalışmada kullanılan yetişkin erkek albino ratlar verilen maddeye göre 4 gruba ayrıldı: birinci gruba sadece zeytinyağı, 2. gruba östrojen (östrojen benzoat – EB), üçüncü gruba KS, 4. gruba ise KS + EB verildi. Ayrıca bu gruplar gibi bir küme daha oluşturuldu ve birinci kümeye bu ilaçlar 15 gün ikinci kümeye 30 gün verilip bu ilaçların kısa ve uzun süredeki etkileri araştırıldı. Çalışmanın sonunda denekler önce eter ile bayıltılarak kuyruk venlerinden kan alındı. Daha sonra anestezik dozu artırılarak öldürüldükten sonra da testisleri disseke edilip tartıldı ve iki gruba ayrıldı. Alınan kanlarda LH, testosteron ve östradiol bakıldı. Testislerde ise uygun şekilde kesilip preparatlar hazırlanarak germ hücre apoptozu ve spermatogenez incelendi. Ayrıca bu testislerdeki testosteron ve östradiol seviyeleri de ölçüldü. Spermatogenezisi incelemek için hazırlanan preparatlar hematoksilen eozin ile boyanıp mikroskopta incelendi. Serum testosteron, LH ve östradiol seviyeleri ELİSA yöntemi ile ölçüldü. Apoptozu değerlendirmek için TUNEL-etiketleme (deoxynucleotidyl Transferase-mediated dUTP Nick-End Labeling-TUNEL) yöntemi kullanıldı. Testisteki gen ekspresyonunu incelemek içinde testislerden izole edilen RNA'dan sirküler DNA çoğaltılıp Real time PCR kullanıldı.

Çalışmanın sonuçları incelendiğinde eksojen EB'nin hem 15 gün hem 30 gün verildiğinde spermatogenezisi bozduğu ve uzun süreli verildiğinde yan etkisinin daha belirgin olduğu görüldü. KS'in tek başına verildiğinde spermatogenezisi ılımlı bozduğu görüldü. EB ve KS kombine edildiğinde spermatogenezisin daha ciddi bozulduğu görüldü. Tek başına EB veya EB + KS 15 gün verildiğinde sperm ve elonge spermatidlerin tamamen yok olduğu görüldü. EB veya EB + KS 30 gün verildiğinde bütün germ hücrelerinin yok olduğu görüldü. Germ hücre apoptozunun kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hepsinde yüksek olduğu fakat en yüksek oranın EB + KS verilen grupta olduğu görüldü. Yine EB ile KS kıyaslandığında, EB'nin

apoptozisi daha fazla uyardığı görüldü. Spermatogenezis ve apoptoz uyarılmasının ciddiyetini görmek için hem testis hem kandaki LH, T ve östrojen seviyelerine bakıldı ve hem EB hem EB + KS gurubunda östrojen miktarı artışıyla T ve LH azalışının korele olduğu görüldü. KS'de hormonlardaki benzer etkiyi ancak 30 gün uygulama sonucunda gösterdi. Östrojen verildiğinde steroidogenezis enzimlerinden StAR ve testisteki P450_{scc}, 3B-HSD tip1, ve P450_{c17} protein miktarındaki azalma ve genlerindeki down regülasyon ancak 30 gün sonra meydana geldi. Kombinasyonda ise bunların EB'ye kıyasla down regülasyonunun daha ciddi olduğu gözlemlendi. Diğer steroidogenezis enzimleri olan 17B-HSD ve 5alfa redüktaz seviyelerinin değişmediği görüldü.

KS'in hipofiz ve hipotalamustaki östrojen reseptörlerine bağlanarak dolaşımdaki düşük miktardaki östrojenin algılanmasını önlediği bu şekilde gonadotropinlerin salınımını arttırdığı düşünülmü ve bu şekilde erkek infertilite-

sinin tedavisinde kullanılıyordu. Ancak erkeklerde hipofizer LH sekresyonu feedback mekanizmasıyla dolaşımdaki östrojen tarafından kontrol edilmektedir. Bu çalışmada KS'in bir östrojen modülatörü olarak östrojen antagonisti gibi değilde agonisti gibi davrandığı görüldü. Buna göre KS tek başına veya EB ile kombine olarak verildiğinde LH salınımını azalttığı ve spermatogenezisi bozduğu görüldü.

Yukarıdaki bulgular ışığında, KS'in östrojen varlığında östrojene sinerjik etkide bulunarak yan etkilerini arttırdığı ve steroidogenezisi bozarak spermatogenezisi de bozduğu gözlenmektedir. Yazarlar bu nedenle KS'in ancak çok kısıtlı endikasyonlarda kullanılması gerektiğini düşünmektedirler.

Çeviri:

Dr. Hamit Harbelioğlu, Doç. Dr. Sadık Görür
Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı