

## Puberte Döneminde Yapılan Kastrasyon ve Kastrasyondan Sonra Verilen Testosteronun Ergin Sıçan Timus Bezinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişikliklerin Işık Mikroskobu ile İncelenmesi\*

Mehmet KANTER<sup>1</sup> Musa GENÇCELEP<sup>2</sup> Ahmet KOÇ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Van.

<sup>2</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Van.

**Özet:** Bu çalışma, puberte döneminde yapılan kastrasyon ve kastrasyondan sonra verilen testosteronun ergin (3 aylık) sıçan timus bezinde meydana getirdiği histolojik değişiklikleri incelemek amacıyla yapıldı. Çalışmada, iki aylık 30 adet erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar her grupta 10 adet olacak şekilde biri kontrol diğer ikisi deneme grupları olmak üzere 3 gruba ayrıldı ve deneme gruplarındaki hayvanlara kastrasyon işlemi yapıldı. I. deneme grubundaki sıçanlar kastrasyon sonrası hiç bir işleme tabi tutulmadan bir ay bekletilirken, II. deneme grubundakilere ise haftada bir kez 5 mg/kg depo testosteron 4 hafta süreyle im verildi. I. deneme grubundaki hayvanların timuslarında stromada hiç bir değişiklik görülmezken, organın parenşim kısmındaki korteks-medulla oranında, korteks lehine bir artış olduğu gözlemlendi. II. deneme grubundaki hayvanların timuslarında ise, stromada ileri derecede bir kalınlaşma ile birlikte özellikle kapsül etrafında ve az miktarda septumlardaki bağ doku içerisinde yağ doku miktarında artış olduğu ve bu yağ dokunun timus parenşiması ile yer değiştirdiği görüldü. Ayrıca, organın parenşim kısmında ise korteks-medulla oranında, medulla lehine bir artış ile birlikte bu iki bölgenin birbirlerine geçiş bölgelerinin düzensiz olduğu tespit edildi. Puberte döneminde yapılan kastrasyonda timus parenşimasında dikkate değer bir büyüme ve timosit sayısındaki artışa bağlı olarak kastre edilmeyenlere göre immun yanıtın daha aktif olabileceği, ancak androjenlerin yeniden uygulanması ile bu etkinin geriye dönüşümlü olduğu sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Sıçan, kastrasyon, testosteron, timus, ışık mikroskobu.

### The Light Microscopic Investigation of the Histological Changes Occurred in Adult Rat Thymus by Pubertal Castration and Testosterone Treatment After the Castration

**Summary:** This study was undertaken to investigate the histological changes occurred in adult rat (three months-old) thymus by pubertal castration and testosterone treatment after the castration. Two months-old 30 male rats were used in this experiment. Rats were divided into 3 groups with 10 animals in each. Two groups were separated for experimental study and castrated. The first treatment group was only castrated and received no treatment. The second treatment group was given 5 mg/kg testosterone (IM) each week for 4 weeks. In the first treatment group, no changes have been observed in stroma of the thymus but cortex-medulla ratio of thymus parenchyma increased favoring cortex. In the thymus of second treatment group, little increase in fat tissue at septum, especially around the capsule and extensive tickness at stroma have been observed. This fat tissue was replaced with thymus parenchyma. In addition, cortex-medulla ratio of parenchyma increased favoring medulla and their borders were irregular. It was concluded that immune response may be more active in pubertal castrated rats than in un-castrated rats due to widened parenchyma and increased number of thymocytes. But these effects may return backward after new androgen application.

**Key Words:** Rat, castration, testosterone, thymus, light microscopy.

#### Giriş

Timusun embriyonal yaşamda en aktif lenfoid bir organ olduğu, bu fonksiyonunu puberteye kadar artırdığı ve puberteden sonra başlayan fizyolojik involüsyon süresi içerisinde timustaki bütün hücrelerde azalma görüldüğü belirtilmektedir (9,12,13,14,17).

Timus, hücrel bağışıklığın oluşması ve immun sistemin gelişmesinde önemli bir role sahiptir. Fötal gelişim sırasında kemik iliğinden timusa gelen protimositler, burada bir dizi farklılaşma geçirir ve sayıları artar (16,18). Timusun gelişimi puberteye kadar devam eder fakat spermatogenezisle birlikte küçülmeye başlayan timus parenşiminin yerini yağ dokusu alır. Bu gerilemeye, pubertede periferik kanda

\* Bu çalışma, Y.Y.Ü. Araştırma Fonu Başkanlığınca desteklenmiştir ( 97 VF 001).

steroid seks hormonları konsantrasyonlarının artışı neden olarak gösterilmektedir (5,7). Puberte öncesinde yapılan gonadektomi ile timusun büyümesinin devam ettiği ve yaşa bağlı olarak oluşan normal timus involusyonunun geciktiği ifade edilmektedir (11).

Seks steroidlerinin immun sistem üzerine baskılayıcı etkileri sonucu timusun kortikal bölgesinde yoğun halde bulunan olgunlaşmamış lenfositlerde bir azalma meydana gelmesine bağlı olarak olgun lenfosit sayısında da bir düşüş görüldüğü bildirilmektedir. T-hücrelerine karşı monoklonal antikor teknikleri kullanılarak yaşlı hayvanların timusunda bir kaç pozitif T-hücresi bulunurken, gonadektomiye takiben yapılan timus incelemelerinde, pozitif T-hücre sayılarında bir artış olduğu bildirilmektedir (19).

Glucksman ve Cherry (4), yaptıkları bir araştırmada puberte öncesinde yapılan gonadektominin, puberte boyunca immunitiyi artırabileceğini ve gonadektomi sonrası timustaki mikroskobik değişikliklerin medullar bölgeden çok kortikal bölgede meydana geldiğini belirtmektedirler (4). Diğer histolojik çalışmalarda (2, 10), gonadektomiye takiben timusun kortikal bölgelerinde genişleme ile birlikte hücre yoğunluğunda da bir artışın olduğu öne sürülmektedir. Kastrasyonla ergin erkek hayvanlardan androjenlerin etkisi ortadan kaldırıldığı zaman timusta, dikkate değer bir büyüme ve timosit sayısında artış olduğu (8), androjenlerin yeniden uygulanmasıyla bu etkinin geriye dönüşümlü olduğu öne sürülmektedir (6). Kastrasyondan sonra timosit sayısındaki artış birden fazla mekanizma ile açıklanabilmektedir; Birinci olarak; timositlerin göç şekillerinin değişmesiyle vücut periferine giden timosit oranında azalma ya da kemik iliğinden timusa gelen protimosit oranında artış olabileceği, ikinci olarak; androjenik hormonların glukokortikoidlerin etkilerine benzer bir şekilde fizyolojik timosit ölümünü artırabileceği, üçüncü olarak da; kastrasyonu takiben primer androjen kaynağının uzaklaştırılmasıyla timositlerde programlanmış ölüm oranının azalması sonucu timusta genişleme meydana gelmekte ve bezin içinde (intra-timik) timositlerin lokal proliferasyonunda bir artış olduğu belirtilmektedir (1,20). Kastre edilen hayvanlardan elde edilen timusların histolojik kesitlerinde görülen mitotik figür sayısında ve izole edilen timositlerin DNA içeriklerindeki artışla birlikte timusun büyümesi, timositlerin intra-timik proliferasyonunun bir sonucu olduğunu göstermektedir. Elde edilen bulgulardan, kastrasyonla birlikte timositlerdeki hücre bölünmelerinde bir artış olduğu gözlenmektedir (15).

Bu çalışmanın amacı; puberte döneminde yapılan kastrasyon ve kastrasyondan sonra verilen testosteronun ergin (3 aylık) sıçan timus bezinde meydana getirdiği histolojik değişiklikleri incelemektir.

#### Materyal ve Metot

Bu çalışmada, puberte döneminde (7-8 hafta) 30 adet erkek sıçan (Wistar albino) kullanıldı. Sıçanlar her grupta 10 adet olacak şekilde biri kontrol diğer ikisi deneme grupları olmak üzere üç gruba ayrıldı. Deneme gruplarındaki hayvanların hepsine kastrasyon işlemi için premedikasyon amacıyla 11.66 mg/kg kas içi Xylazin hidroklorid (Rompun, 23.32 mg/ml, BAYER) uygulandı ve 5 dakika sonra genel anestezi amacıyla 25 mg/kg kas içi Ketamin hidroklorür (Ketalar, 50 mg/ml, ECZACIBAŞI) verildi. Testisler skrotuma yapılan ensizyondan sonra çıkarılarak kastrasyon işlemi tamamlandı. Deneme gruplarına yapılan bu operasyon, aynı stres şartları oluşturabilmek için testisleri çıkarılmadan kontrol grubundaki sıçanlara da uygulandı. I. deneme grubundaki sıçanlar kastrasyon sonrası hiç bir işleme tabi tutulmadan bir ay bekletilirken, II. deneme grubundakilere ise haftada bir kez 5 mg/kg depo testosteron (Sustanon 250, 250 mg/ml, ORGA-NON) 4 hafta süreyle kas içi verildi. Bu sürenin bitiminde I ve II deneme gruplarındaki sıçanlarla kontrol grubundaki sıçanların timusları, genel anesteziye sonra çıkarılarak %10'luk nötral formalinde tespit edildi. Rutin histolojik doku takiblerinden sonra parafine gömülen parçalardan 6 µm kalınlığında alınan kesitler Mallory triple boyama yöntemi ile boyanarak ışık mikroskopunda (Nikon Optiphot-2) incelendi ve gerekli görülen bölgelerin fotoğrafları çekildi.

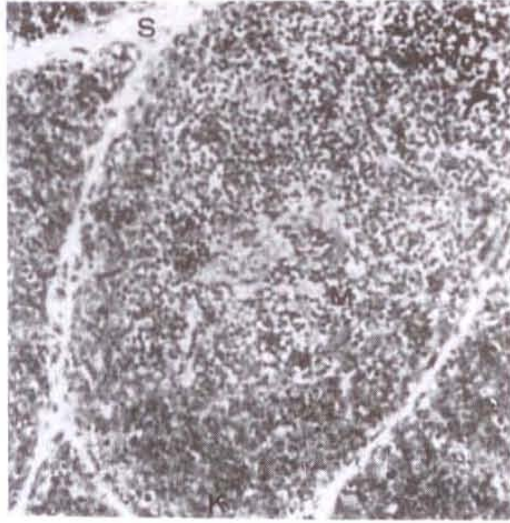
#### Bulgular

**Kontrol Grup:** Gevşek bağdokudan yapılmış ve timus'u dıştan saran kapsülün organ içine septumlar göndererek timus'u tam olmayan lopçuklara ayırdığı, bazen de lopçukların kesite bağlı olarak çevrelerinin bağdoku ile sarılı bağımsız oluşumlar halinde oldukları görüldü. Lopçukların parenşim kısmının korteks (koyu) ve medullar (açık) bölgeler olmak üzere iki kısımdan oluştuğu tespit edildi (Resim 1).

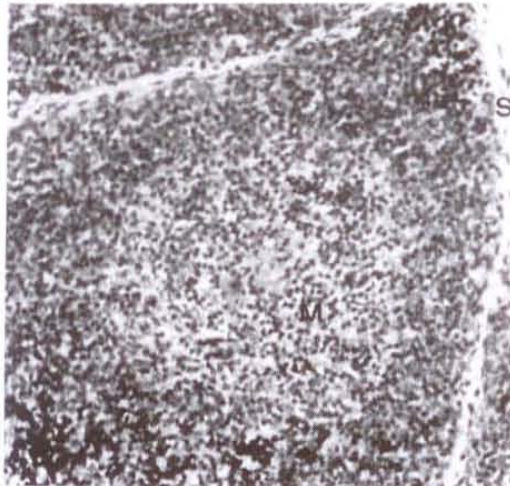
**Kastre Edilmiş Grup (I. deneme grubu):** Kastrasyon sonrası hiç bir işleme tabi tutulmadan bir ay bekletilen hayvanların timusları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında stromada hiç bir değişiklik görülmezken, organın parenşim kısmındaki korteks-medulla oranında, korteks lehine bir artış olduğu gözlemlendi (Resim 2).



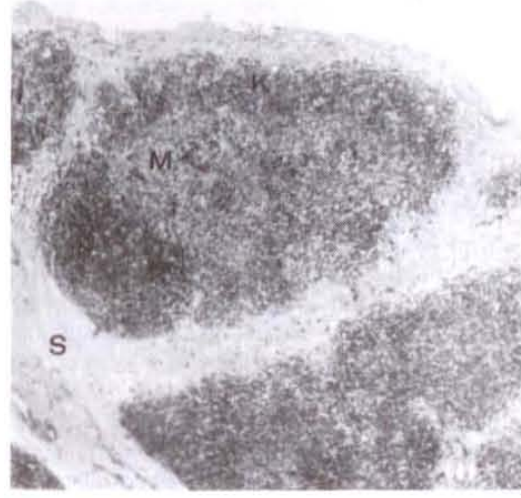
*Kastrasyon Sonrası Testosteron Verilen Grup (II. deneme grubu):* Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, stromada ileri derecede bir kalınlaşma ile birlikte özellikle kapsül etrafında ve septumlardaki bağdoku içerisinde yağ dokuda az miktarda artış olduğu belirlendi. Organın parenşim kısmında ise kastrasyon sonrası hiç bir işleme tabi tutulmayan grubun aksine korteksmedulla oranında , medulla lehine artıma ile birlikte bu iki bölgenin birbirlerine geçiş sınırlarının düzensiz olduğu görüldü (Resim 3).



Resim 1. Kontrol grubu sıçanlarda timusun görünümü. K:korteks, M:medulla, S:stroma. Mallory Triple, X175.



Resim 2. Kastre edilmiş sıçanlarda timusun görünümü. K:korteks, M:medulla, S:stroma. Mallory Triple, X175.



Resim 3. Kastrasyon sonrası testosteronun verilen sıçanlarda timusun görünümü. K:korteks, M:medulla, S:stroma. Mallory Triple, X70.

#### Tartışma ve Sonuç

Bu çalışma, puberte döneminde yapılan kastrasyon ve kastrasyondan sonra verilen testosteronun ergin (3 aylık) sıçan timus bezinde meydana getirdiği histolojik değişiklikleri incelemek amacıyla yapıldı. Lee ve Meade (11) puberte öncesi, Greenstein ve ark. (6)'ı da yaşlı ratlarda yaptıkları gonadektominin timusu büyüttüğünü, Kendall ve ark. (10)'ı ise aynı tür yaşlı hayvanlarda yaptıkları bir çalışmada, gonadektomiye takiben yapılan timus incelemelerinde, pozitif T-hücre sayılarında bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, Glucksman ve Cherry (4), ratlarda puberte öncesinde yapılan gonadektominin, puberte boyunca immunitiyi artırabileceği ve gonadektomi sonrası timustaki mikroskobik değişikliklerin medullar bölgeden çok kortikal bölgede meydana geldiğini, Castro (2) ise farelerde gonadektomiye takiben timusun kortikal bölgelerinde genişleme ile birlikte hücre yoğunluğunda bir artış olduğunu yine Nancy (15), kastrasyon sonrası timusta mitotik figür sayısında ve izole edilen timositlerin DNA içeriklerindeki artışla birlikte timus'un büyümesi, timositlerin intratimik proliferasyonu ve kastrasyonla birlikte timositlerdeki hücre bölümlerinde bir artış olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada, kastrasyon sonrası hiç bir işleme tabi tutulmadan bir ay bekletilen hayvanların (I. deneme grubu) timusları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında stromada hiç bir değişiklik görülmezken, organın parenşim kısmındaki korteksmedulla oranında,



korteks lehine bir artışın olması yukarıdaki literatür bilgileriyle paralellik arz etmektedir.

Glüksman ve Cherry (4). kastrasyon sonrası tek bir doz halinde 40 mg testosteron propionate enjekte ettikleri ratlarda timus medullasının genişlemesinden ziyade korteksinin daraldığını, Kendal ve ark. (10) aynı tür hayvanlarda yaptıkları bir çalışmada, seks steroidlerinin immun sistem üzerine baskılayıcı etkileri sonucu timusun kortikal bölgesinde yoğun halde bulunan olgunlaşmamış lenfosit sayısında bir azalmanın meydana geldiğini ve bu azalmaya bağlı olarak olgun lenfosit sayısında bir düşüş görüldüğünü bildirmişlerdir. Kastrasyonla ergin erkek hayvanlardan androjenlerin etkisi ortadan kaldırıldığı zaman timusta, dikkate değer bir büyüme ve timosit sayısında artış olduğu (8); androjenlerin yeniden uygulanması ile bu etkinin geriye dönüşümlü olduğu ifade edilmektedir (6). Bazı araştırma sonuçlarına göre (3,5,7), pubertede periferik kanda steroid seks hormonları konsantrasyonlarının artması sonucu küçülen timus parenşim dokusunun yerini yağ dokusu almaya ve stroma kalınlaşmaktadır. Windmill ve arkadaşları (19), genç hayvanlarda puberte öncesinde yapılan gonadektomiden sonra timusun büyüdüğünü ve dışarıdan seks steroidleri uygulamalarından sonra timusun küçüldüğünü monoklonal antikor teknikleri kullanarak da ortaya koymuşlardır. Yapılan çalışmada kastrasyon sonrası haftada bir kez 4 hafta süreyle 5 mg/kg testosteron verilen hayvanların (II. Deneme grubu) timusları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; stromanın kalınlaşması ve küçülen parenşimin yerini yağ dokusunun alması, ayrıca, organın parenşim kısmında ise medulla lehine bir artışın görülmesi yukarıdaki araştırmacıların (3-8,10,19) bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Bazı araştırmacılar (4,19)'ın puberte öncesinde yaptıkları kastrasyondan 2 hafta sonra (puberte dönemi) elde ettikleri bulgular ile bu çalışmada puberte döneminde yapılan kastrasyondan sonra erginliğin ilk birinci ayında elde edilen bulguların benzerlik göstermesi nedeniyle puberte öncesi ve puberte döneminde yapılan kastrasyonun timus bezinde benzer etkiler meydana getirdiği gözlemlendi.

Bu çalışmada; puberte döneminde yapılan kastrasyonun timusun kortikal bölgelerinde genişleme ile birlikte hücre yoğunluğunda bir artış yaparak immunitiyi artırabileceği, bu hayvanlara androjenlerin yeni-den uygulanması ile immun sistemin tekrar baskılandığı sonucuna varıldı. Ancak, kastrasyonun immunitiyi nasıl artırdığı veya seks steroidlerinin immunitiyi nasıl azalttığını ortaya koymak için yeni çalışmaların yapılması gerekmektedir.

## Kaynaklar

- 1-Caron-Leslie L., A.M., Schwartzman, R.A., Gaido, M.L., Compton, M.M., Cidowski, J.A., (1991) Identification and characterization of glucocorticoid regulated nuclease(s) in lymphoid cells undergoing apoptosis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 40:661-671
- 2-Castro, J.E. (1974): Orchidectomy and the immune response. I. Effect of orchidectomy on lymphoid tissues of mice. *Proc. Royal Soc. Lond. B Biol. Sci.* 185: 425-36.
- 3-Fawcett, D.W. (1986): *A Textbook of Histology*. 11 th Ed. WB Saunders Company, Philadelphia, London, p-436
- 4-Glucksmann, A., and Cherry, C.P. (1968): The effect of castration, oestrogens, testosterone and the oestrous cycle on the cortical epithelium of the thymus in male and female rats. *J Anat.* 103, 113-33.
- 5-Golsteyn, E.J., and Fritzer, M.J. (1987): Review: the role of the thymus-hypothalamus-pituitary-gonadal axis in normal immune processes and autoimmunity. *J. Rheumatol.* 14, 982-90
- 6-Greenstein, B.D., Fitzpatrick, F.T.A., Adcocok, I.M., Kendall, M.D., Wheeler, M.J. (1986): Reappearance of the thymus in old rats after orchidectomy: inhibition of regeneration by testosterone. *J Endocrinol* 110:417-422.
- 7-Grossman, C.J. (1985): Interactions between the gonadal steroids and the immune system. *Science (Wash DC)* 227, 257-61.
- 8-Henderson, J. (1904): On the relationship of the thymus to the sexual organs. I. The influence of castration on the thymus. *J Physiol* 31:22-32
- 9-Izard J. (1966): Ultrastructure of the thymic reticulum in guinea pig. *Anat. Rec.* 155: 117-132.
- 10-Kendall, M.D., Fitzpatrick, F.T.A., Greenstein, B.D., Khoylou, F., Safieh, B., and Hamblin, A. (1990): Reversal of ageing changes in the thymus of rats by chemical or surgical castration. *Cell Tissue Res.* 261, 555-64.
- 11-Lee, V.W.K., and Meade, B.J. (1987): Prepubertal gonadectomy increases growth of thymus glands in rats. *Med. Sci. Res.* 15, 1367-
- 12-Leonhardth H. Çeviri Kazancıgil A., Atay T. (1986): *Anatomi atlası, Karın ve iç organlar cilt 2*. Sermet Matbaası, 94.
- 13-Mandel T. (1968): Ultrastructure of epithelial cells in the medulla of the guinea pig thymus. *Aust. J. Exp. Biol. med. Sci.* 46:755-767.
- 14-Mandel T. (1970): Differentiation of epithelial cells in the mouse thymus. *Z. Zellforsch.* 106:498-515.
- 15-Nancy, J., Olsen, Susan, M., Visellit, Kerth, Shults, Gregory Stelzer and William, J. Kovacs (1994): Induction of immature thymocyte proliferation after castration normal male mice. *Endocrinology*, 1:102-113.

**16-Petrie, H.T., Hugo, P., Socollay, R., Shortman, K. (1990):** Lineage relationships and developmental kinetics of immature thymocytes: CD3, CD4 and CD8 acquisition in vivo and in vitro. *J Exp Med* 172:1583-1588.

**17-Pfoch, M. (1971):** Vergleichende elektron-mikroskopische untersuchung der endodermalen thymus retikulanzellen neugeborener und alter Wistar-Ratten. *Z. Zellforsch* 114:271-280.

**18-Scolla, R., Smith, J., Stauffer, V. (1986):** Dynamics of early T cells: Prothymocyte migration and

proliferation in the adult mouse thymus. *Immunol Rev* 91:129-157.

**19-Windmill, K.F., Meade, B.J. and Lee V.W.K. (1993):** Effect of prepubertal gonadectomy and sex steroid treatment on the growth and lymphocyte populations of the rat thymus. *Reprod. Fertil, Dev.*, 5:73-81.

**20-Wyllie, A.H. (1980):** Glucocorticoid induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 284:555-556.