

CISPLATİNİN SIÇAN BÖBREK VE TESTİSLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Esra Atabenli Erdemli* • Deniz Ergeneci** • Şafak Atahan*** • Levent Işııkay****

ÖZET

Cisplatin hücre siklusuna özgü olmaksızın DNA sentezini baskılayarak hücreler üzerinde sitotoksik etki yapar. Testis, over, mesane karsinomaları gibi karsinomaların tedavilerinde kullanılan bir kemoterapötiktir. Buna karşın nefrotoksisite, nörotoksisite ve gastrointestinal iritabilite gibi etkilerinin yanında cisplatin tedavisi alan üreme çağındaki erkeklerde oligospermi, azospermi ve infertilite gelişmesi önemli bir sorundur. Bu nedenle, çalışmamızda bazı tedavi şemalarında kümülatif düşük dozlarda (0.18 mg/kg, haftada bir, 6 hafta süreyle) kullanılan cisplatinin siçan böbrek ve testisleri üzerindeki morfolojik etkileri incelendi. İlk dozdan sonraki 2. ve 6. haftalarda ilaç verildikten 1 hafta sonra sakrifiye edilen siçanlarda elde edilen böbrek dokusu incelemelerinde başlıca korteks-dış medulla bölgesindeki proksimal tüp epitelinin etkilendiği görüldü. Testiküller doku incelemelerinde ise cisplatinin başlıca B spermatogonyum ve spermatidlerde hasar oluşturduğu, A spermatogonyumları ise etkilemediği belirlendi. Bu bulguların ışığında böbrekte proksimal tüp epitel hücrelerinin rejenerasyon yeteneği ve testiste A spermatogonyumların mitozlarla çoğalarak differansiye hücreleri oluşturacakları düşünülerek cisplatin etkisinin geri dönüşümlü olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Böbrek, Cisplatin, Spermatogenez

SUMMARY

The Effects of Cisplatin on Kidney and Testis in Male Rats

Cisplatin is an effective antitumour agent which is widely used in anticancer regimens. In spite of its good antitumor activity, cisplatin induces serious side effects including hematological, renal and reproductive toxicity. It is generally accepted that DNA is the target responsible for the cytotoxic and antitumour action of platinum compounds. Whether this possible antitumour activity is associated with nephrotoxicity is not known. The present study examined the effects of minimal therapeutic dosage (0.18 mg/kg/week) and frequency of cisplatin administration (6 weeks) on kidney tissue and the status of spermatogenesis in male rats. In our work, cisplatin treatment induced proximal tubular changes and moderate distal tubular damage. These lesions progressively worsened on the long time period. The results showed cisplatin to have a cytotoxic effect on spermatogenic cells especially spermatids but does not result in total killing of stem cells so we considered that the effects of the cisplatin in low doses are reversible in testes and kidney.

Key Words: Cisplatin, Kidney, Spermatogenesis

Kemoterapötik ajanlar çeşitli kanser tiplerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Bunların toksisiteleri ve taşıdıkları minör riskler tedavide gösterdikleri potansiyel yararlılık düşünüldüğünde sıklıkla göz ardı edilir. Çeşitli organ ve sistemlere olan toksisiteleri yanında risklerden biri üreme çağındaki bireylerin over veya testis hasarına bağlı olarak üreme yeteneklerinin kaybedilmesidir. Özellikle testis hücreleri mitotik, mayotik

morfojenik çeşitli süreçlere girdiklerinden kemoterapötik ajanlar tarafından hedef olarak seçilir, bu yüzden de kolayca hasarlanırlar.

Kemoterapötik ajanlar alkilleyiciler, antimetabolitler, mitotik inhibitörler, antibiyotikler, enzimler, hormonlar ve hormon antagonistleri gibi çeşitli kategorilere ayrıldıklarından, bunların genel etki mekanizmalarının benzerliğinden söz etmek doğru olmaz.

* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji ABD

** Ankara Üniversitesi Sağlık Eğitim Fakültesi, Temel Sağlık Bilimleri Bölümü

*** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji ABD, Klinik Sitoloji BD

**** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji ABD

Bu çalışmada ele aldığımız cisplatin yapısı bakımından diğer antineoplastik ilaçlara benzemeyen organik platin türevi bir ilaçtır. Hücre siklusuna özgü değildir ve DNA çift zincirinde çapraz bağlanma yapar (1). Solid karsinomaların tedavisinde kullanılır. Özellikle testis, over, mesane karsinomaları cisplatin temeline dayanan kemoterapiye duyarlıdır. Buna karşın nefrotoksisite, nörotoksisite, gastrointestinal irritabilite gibi yan etkilerinin yanında azospermi, oligospermi ve infertiliteye neden olduğu bildirilmiştir (1,2).

Günümüzde kullanılan tedavi şemaları çok ilaçlıdır. Bu nedenle tek başına cisplatinin böbrek ve testis dokusuna olan etkisini belirlemek zor olduğundan, deneysel olarak sıçanlarda oluşturduğu morfolojik değişikliklerin süre ilişkisi temelinde histopatolojik olarak aydınlatılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 16 adet Wistar tipi erişkin erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanların 4 tanesi kontrol grubu olarak ayrılmış, diğerleri 6'şarlı 2 deney grubuna ayrılarak mutad insan dozunda (0.18 mg/kg) cisplatin i.v olarak kuyruk veninden haftada bir kez enjekte edilmiştir. İlacın erken ve geç dönem doku üzerine etkisini araştırmak amacıyla 2. ve 6. haftada ilaç verilmesini takiben 1 hafta sonra sıçanlar ketamin anestezisi altında sakrifiye edilerek böbrek ve testisleri çıkarılmıştır. Çıkarılan örnekler ışık mikroskobu takibi için Bouin solüsyonunda tesbit edilip parafin bloklara gömülmüştür. Alınan kesitler Hematoksilin-Eozin, PAS, Masson trikrom ve Mallory Azan boyalarıyla incelenmiştir. İlerde yapılması planlanan elektron mikroskobu incelemeleri için alınan dokular ise fosfat tamponlu %2.5 gluteraldehitte tesbit edilip yarı ince kesitleri Toluidin mavisi-Azur II ile boyanmıştır. Işık mikroskobu incelemeleri Axioskope fotomikroskobu altında yapılmıştır.

Işık mikroskobu incelemelerinde testiste tubuli seminiferi kontorti duvarında spermatogenezin değerlendirilmesi Johnsen kriterlerine göre yapılmıştır (3).

Johnsen Kriterleri

- 10 Germ epiteli çok tabakalı, açık santral lümen, çok miktarda spermatozoon,
- 9 Germ epiteli çok tabakalı ancak disorganize, lümendeki epitel hücreleri spermatozoonlarla karışmış,
- 8 Germ epiteli çok tabakalı, lümeninde 10'dan daha az spermatozoon,

- 7 Çok miktarda spermatid, ancak hiç spermatozoon yok,
- 6 Hiç spermatozoon yok, spermatid sayısı 10'dan daha az,
- 5 Bir kaç tane spermatosit, spermatid veya spermatozoon yok,
- 4 Spermatozoon ve spermatid hiç yok, spermatosit sayısı 5'den az,
- 3 Sadece bir kaç spermatogonyum,
- 2 Bir kaç sertoli hücresi, germ hücresi hiç yok,
- 1 Seminifer tübülde hiç hücre yok,

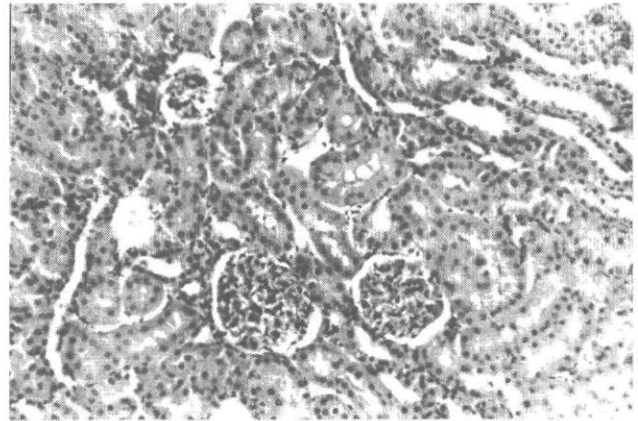
Bu puanlama sistemine göre incelenen tubuli seminiferi kontorti kesitlerine verilen puanların toplamı, sayılan tübül sayısına bölünerek ortalama puan hesaplanmıştır.

BULGULAR

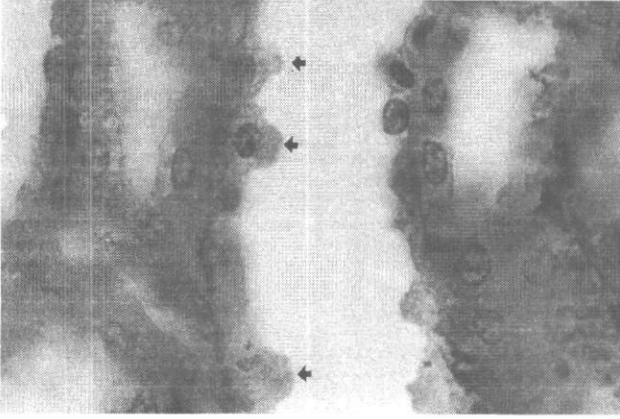
Böbrekler

Kontrol grubunda böbreklerde korteks ve medullar bölgelere ait oluşumlar normal olarak izlendi (Şekil 1). 2. haftadan başlamak üzere 6. haftada daha belirgin düzeyde histopatolojik değişiklikler özellikle korteks ve dış medulla sınırındaki bölgede görüldü. Proksimal ve distal tüplerin uzunlamasına kesitlerinde lümen genişlemesi dikkat çekti (Şekil 2).

6. haftada proksimal tüp epitel hücrelerinin sitoplazmasında belirgin vakuolizasyon izlendi. Buna karşın distal tüplerde vakuolizasyon görülmedi. Daha ileri büyültmelerde proksimal tüplerde sitoplazma içinde

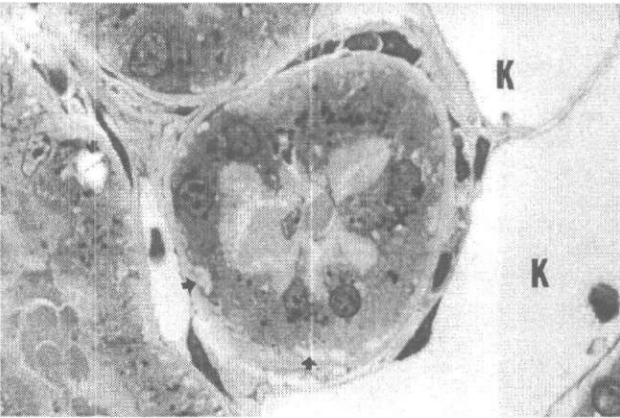


Şekil 1. Kontrol grubunun böbrek dokusuna ait mikrografta korteks-medulla bölgesinde glomerüller, proksimal ve distal tüp epitelleri olağan olarak izlenmektedir (X50 H.E).

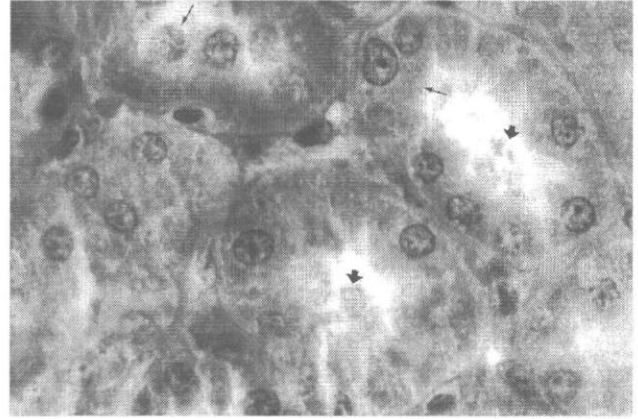


Şekil 2. 2. Haftaya ait mikrografta proksimal ve distal tüplerin uzunlamasına kesitlerinde lümen genişlemesi, distal tüp kesitlerinde hücresel kayıp yanında bazı hücrelerin kubbe şeklinde (↑) lümeneye kabarıklık yaptığı görülmektedir (X250 H.E).

sekonder lizozomlara karşılık geldiği düşünülen koyu granüler yapılar izlendi (Şekil 3). Hücrelerin apikal yüzünde süreyle artan oranda yer yer fırçası kenar farklılaşmasının bozulduğu dikkat çekti (Şekil 3,4), bunun yanında yer yer sitoplazma içeriğinin lümeneye boşaldığı görüldü (Şekil 4). Distal tüp kesitlerinde de hücresel kayıp yanında bazı hücrelerin kubbe şeklini alarak lümeneye kabarıklık yaptığı belirlendi (Şekil 2). Proksimal tüp epitel hücrelerinde çekirdekte piknoz görüldü (Şekil 5). Ara dokuda vasküler dilatasyon (Şekil 3) ve fibrozis izlendi. Glomerüller hasar tesbit edilmedi.



Şekil 3. Proksimal tüp epitel hücrelerinde sitoplazmada vakuolizasyon (↑) ve koyu granüler yapılar izlenmektedir. Hücrelerin apikal yüzünde yer yer fırçası kenar farklılaşmasının bozulduğu, ara dokuda kılcal damarlarda (K) genişlemenin olduğu dikkat çekmektedir (x250 Toluidin mavisi – Azur II).



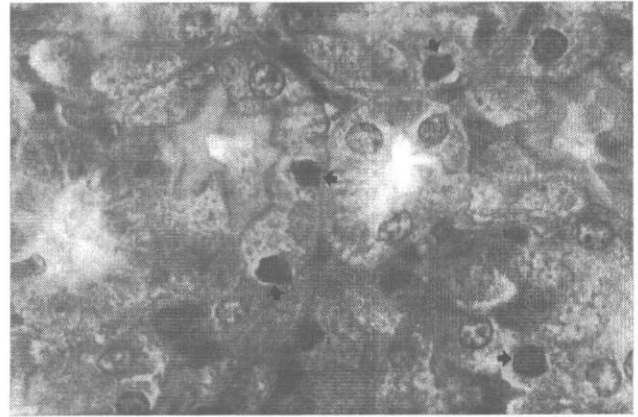
Şekil 4. 6. Haftaya ait mikrografta proksimal tüp hücrelerinde fırçası kenar kaybı (↓) ve yer yer hücre sitoplazma içeriğinin lümeneye boşaldığı dikkat çekmektedir (↑). (x250 Masson trikrom).

Testisler

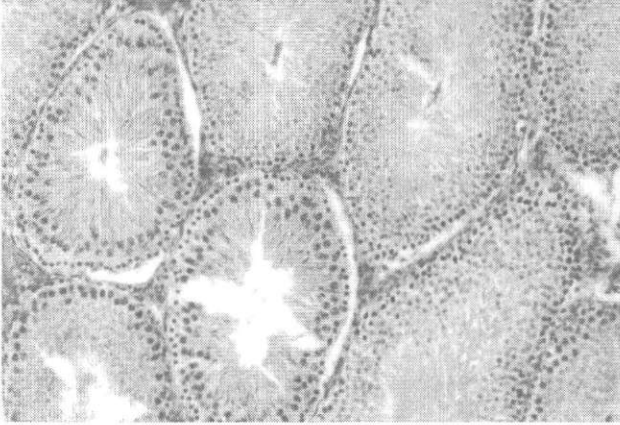
Tubuli seminiferi kontorti duvarında spermatogenez Johnsen kriterlerine göre değerlendirildi. Kontrol grubuna ait örneklerde ortalama değer 9.10 olarak bulunurken, deney grubuna ait örneklerde 2. haftada=7,30, 6. haftada= 6,00 olarak bulundu.

Tubuli seminiferi kontorti kesitlerinde santral lümenler kontrol gruplarına ait örneklerde açık iken (Şekil 6) deney grubuna ait örneklerde süreyle ilişkili olarak artan oranda kapalı olarak bulundu (Şekil 7).

Tubuli seminiferi kontorti duvarlarında 2. haftadan başlayarak 6. haftada daha belirgin olmak üzere bazal membranda kalınlaşma, germ hücrelerinde sıralanma bozukluğu, özellikle 6. haftada epitelin derinlerine



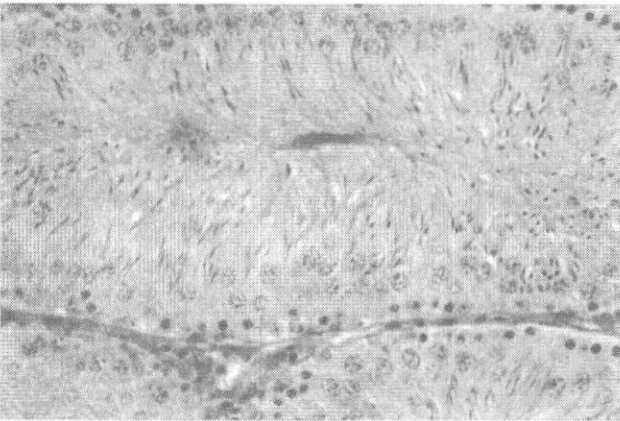
Şekil 5. 6. Haftaya ait mikrografta bazı proksimal tüp hücrelerinin çekirdeklerinde piknoz görülmektedir (↑) (x250 Mallory Azan).



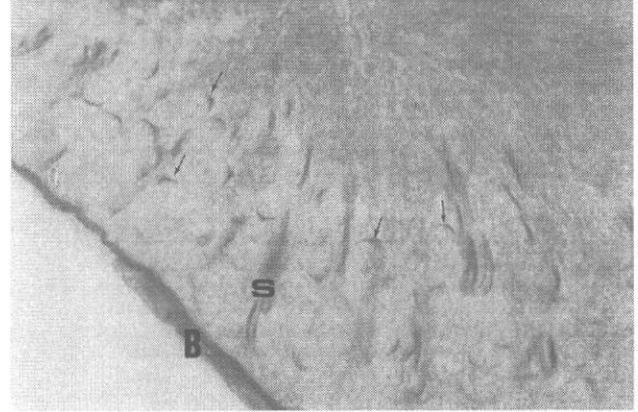
Şekil 6. Kontrol grubuna ait mikrografta seminifer tüp kesitleri lümenleri açık ve ara doku normal olarak izlenmektedir (x50 H.E).

yerleşim gösteren spermatozoonlar dikkat çekti. Kontrol grubuna ait kesitlerde bütün spermatidlerin akrozom vezikülleri bazal duruşlu iken cisplatin enjeksiyonunu takiben spermatidlerde akrozom vezikülü yerleşiminin bozulduğu görüldü (Şekil 8).

Süreyle artan oranda Sertoli hücreleri ve spermatozoonların bazal membrandan ayrıldığı, tüm epitel duvarı boyunca hücreler arası mesafenin arttığı, B spermatozoonum çekirdeklerinde koyulaşma; lümene yakın hücrelerde, özellikle spermatidlerde kromatin yoğunlaşması, parçalanması, sitoplazmada vakuolizasyonla tanımlanan apoptozisle hücre ölümü ve lümene dökülmüş apoptotik hücreler görüldü. A sper-



Şekil 7. 6.haftaya ait mikrografta seminifer tüp kesitinde lümen kapalı, spermatozoonlar epitelin derininde yerleşik olarak görülmektedir (x100 H.E).



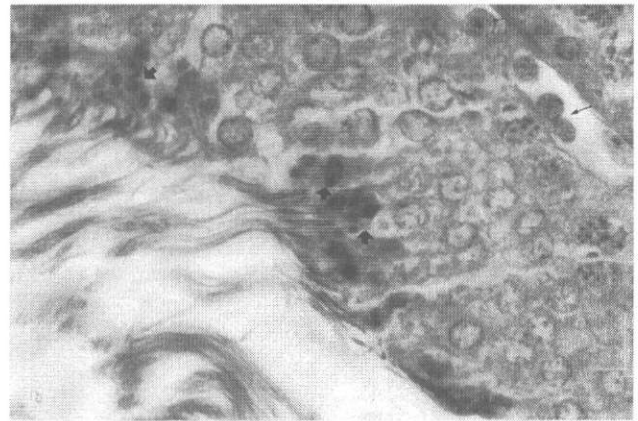
Şekil 8. 6.haftaya ait mikrografta bazal membranda kalınlaşma (B), germ hücrelerinde bozulmuş hücre sıra dizilimi ve epitelin derinlerine yerleşmiş spermatozoonlar (S) izlenmektedir. Spermatidlerde akrozom vezikülü (↑) yerleşiminin bozulduğu dikkat çekmektedir (x250 PAS).

matogonyumların cisplatin enjeksiyonundan etkilenmediği dikkati çekti (Şekil 9,10,11).

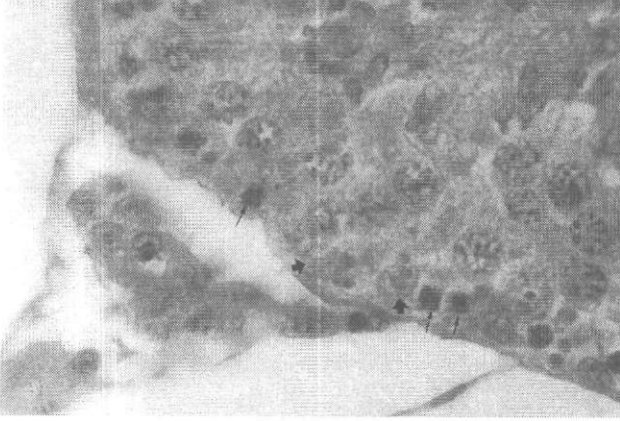
Sertoli hücrelerinde çekirdek ve sitoplazmada büzülme izlendi (Şekil 10).

TARTIŞMA

Kemoterapi protokollerinde ki son gelişmeler ilerlemiş evrelerde bile bazı kanserlerde hastaların yaşam sürelerini arttırmaktadır. Özellikle son yıllarda testis tümörlerine uygulanan tedavi %90'ın üzerinde 5 yıllık



Şekil 9. 6. haftaya ait mikrografta B spermatozoonumların (↑) bazal membrandan ayrıldığı ve çekirdeklerinde koyulaşma olduğu görülmektedir. Epitel hücreleri arasındaki mesafenin açıldığı ve lümene yakın spermatidlerde (↑) apoptotik değişiklikler izlenmektedir (x250 Masson trikrom).

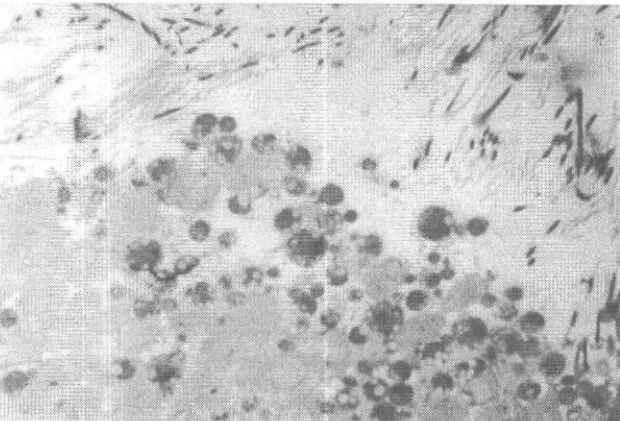


Şekil 10. 6.haftaya ait mikrografta Sertoli hücrelerinde çekirdekte büzüşme (▲), B spermatogonyum (▲) çekirdeklerinde koyulaşma görülmektedir (x250 H.E).

yaşam oranını artırarak prognozun düzelmesine yol açmıştır. Ancak bu hastaların büyük çoğunluğunun üreme yaşında olması kanser tedavisinin fertilité üzerine olan etkisini ve önemini arttırmaktadır. Bunun yanında kanser tedavisinde kullanılan ilaçların hedef organ dışında diğer organ ve sistemlere de toksik etkileri bulunmaktadır. Bu çalışmada yaygın olarak kemoterapi protokollerinde kullanılan cisplatinin böbrek ve testisler üzerinde oluşturduğu morfolojik değişiklikleri değerlendirdik.

Böbrekler

Çalışmamızda histopatolojik değişikliklerin özellikle korteks medulla sınırındaki bölgede belirgin olmak üzere kortekse uzandığını ve bulguların 2. hafta-



Şekil 11. 6.haftaya ait mikrografta spermatidlerde sitoplazmada vakuolizasyon ve apoptozisle hücre ölümü izlenmektedir (x100 Toluidin mavisi-Azur II).

dan başlamak üzere 6. haftada daha belirginleştiğini saptadık. Diğer çalışmalarda morfolojik değişikliklerin özellikle medullada yoğunlaştığı, böbrek medullası proksimal tüplerinde S_3 fokal tübüler nekroz varlığı belirtilmiştir (4,5). Bizim çalışmamızda sadece piknozla karakterize çekirdek ölümü tesbit edilmiş, daha ileri aşamadaki nekroz ve inflamasyon izlenmemiştir. Bu da verdiğimiz cisplatin dozunun düşük tutulmasına bağlanmıştır. Çalışmamızda etkilenen bölge daha çok jukstamedullar nefronların proksimal tüplerinin kortekste bulunan S_1 bölgesi ve medulla dış bölgesi olarak dikkat çekmiştir.

Yapılan bir çalışmada tek ve yüksek doz cisplatin enjeksiyonundan 12 saat sonra özellikle kortiko meduller proksimal epitel hücrelerinde çekirdekteki DNA sentezinin baskılandığı ve kromatin kümeleşmesi ile çekirdekte parçalanma olduğu bildirilmiştir. Erken morfolojik değişiklikler ve biyokimyasal bulgular böbrekte tübülüs hücrelerinde ilk etkilenen organelin çekirdek olduğunu göstermektedir. Cisplatin enjeksiyonundan 72 saat sonra çekirdekte DNA sentezinin hızlanması ise renal tübüler hücrelerinde rejenerasyonun göstergesidir (6). Dahası elektron mikroskobu çalışmalarında tübüler bazal membran duplikasyonunun varlığı da rejeneratif sürecin başladığı yönünde bir işaret olarak değerlendirilmiştir (7). Bu çalışmada ilaç uygulaması düşük dozda uzun süreli verildiğinden epitelde dökülme tesbit edilmiş ancak rejenerasyon izlenmemiştir.

Cisplatin başlıca böbrekler tarafından ekskrate edilir. Vücuda verilen cisplatinin %50'si ilk 24 saat içinde idrardan serbest olarak atılırken bundan sonra cisplatin hızla plazma proteinlerine bağlanarak dokularda birikir. Böbrek diğer organlara göre çok daha büyük bir oranda cisplatin tutar (8). Çalışmamızda da proksimal tüp epitel hücrelerinde saptadığımız granüler görünümü artmış lizozomlar olarak değerlendirdik. Lizozomlardaki bu hem büyüklük hem de sayıca artış cisplatinin böbrekte özellikle proksimal tüplerde geri emilerek tutulduğunu göstermektedir.

Cisplatin uygulamasını takiben mitokondriyonlarda şişme ve fonksiyon bozukluğunun ilk gözlenen bulgularından biri olduğu belirtilmiştir (8). Bunun sonucunda tübüler transportun değişmesine bağlı polyüri, NaCl, K ve Mg kaybı ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda gözlediğimiz proksimal tüp epitel hücre sitoplazması içindeki vakuoller K^+ eksikliğine bağlı gelişen hipokalemik nefrozis bulgularını akla getirmektedir.

Cisplatinin neden olduğu nefrotoksisitenin mekanizması henüz açıklanamamıştır. Cisplatin ile oluşan böbrek hasarında, kapiller permeabilite artışına ve vazodilatasyona yol açan mediatör ajanlarının rolü üzerinde durulmaktadır. Bizim çalışmamızda da vazodilatasyon bulguları izlenmiştir. Ancak cisplatinin esas etkisinin DNA sentezi inhibisyonu olduğu ve bu şekilde nefrotoksisite üzerinde patojenik önemi olduğu düşünülmektedir (5,6). Çalışmamızda bu etkinin düşük dozda kuvvetli olmadığını ve ilaç kesildiğinde geri dönebilir olduğunu gördük.

Testisler

Çalışmamızda cisplatinin testislerdeki spermatojenik aktivite ve fertilité üzerine etkisini belirlemek için Johnsen'ın puanlama sistemini kullandık (3). Buna göre altı hafta boyunca haftada tek doz cisplatin alan grupta ortalama puan en düşük olarak bulundu. Ortalama puandaki bu azalma spermatogenez ve spermiyogenezin bozulması lehine değerlendirildi. Süreyle ilişkili olarak artan oranda tubuli seminiferi kontorti kesitlerinde santral lümenler kapalı olarak bulundu. 6.haftada en fazla olmak üzere bazal membranda kalınlaşma, germ hücrelerinde sıralanma bozukluğu, spermatidlerin akrozom veziküllerinde yerleşimin bozulduğu, derinlere yerleşen spermatazoonlar infertilite yönünden dikkat çekti. Bu bulgular sonucunda ilacın germ hücrelerinde diferansiyasyon bozukluğu, apoptozisle hücre ölümünün indüklenmesi ve ilaçdan önce farklanmış hücrelerde lümene verilmiş bozukluğu yarattığı düşünüldü.

Klinikte yapılan geniş çaplı retrospektif çalışmalar cisplatinin kök hücreler üzerinde total öldürücü etki göstermediğine işaret etmektedir. Cisplatinin B spermatogonyumları ve lümene komşu bölgede germ hücrelerini etkilediği bildirilmiştir (2,9,10). Bu sonuç cisplatinin lümene kadar girebilme yeteneğine bağlı olarak ilaç etkisi olabileceği gibi ilacın Sertoli hücrelerine verdiği zarara bağlı sekonder bir etki de olabilir. Spermatogenez Sertoli hücreleri tarafından düzenlenmekte ve desteklenmektedir. Sertoli hücrelerinin önemli işlevlerinden biri de, germ hücrelerinin fark-

lanması için tübül içinde mikroçevrenin stabilitesini sağlayan kan-testis bariyerini oluşturmaktır. Yapılan bir çalışmada cisplatinin Sertoli hücrelerinin arasında bulunan zonula okludens tipi bağlantı komplekslerini etkilediği gösterilmiştir. Bunun anlamı cisplatinin kan-testis bariyerini bozmasıdır (2). Bizim çalışmamızda da Sertoli hücrelerinin çekirdeklerinde büzüşme ile yıldız biçimini aldıkları ve temasta oldukları komşu hücrelerden ayırdıkları görülmüş hücreler arası mesafenin artışı ve hücrelerin bazal membrandan ayrılması tesbit edilmiştir. B spermatogonyumlar ve spermatidlerde apoptozisle hücre ölümü belirlenmiştir. Spermatidlerde gözlenen apoptozis bulguları, ilacın Sertoli hücrelerini etkilemesi ve kan - testis bariyerini geçmesi sonucuna bağlanmıştır.

Cisplatinin toksik dozda kullanıldığı bir çalışmada oluşan testis hasarının kısa dönemde önemli olduğu, A spermatogonyumların B'ye farklanma süresi olan 29. günde ve germ epitelinin spermatogenetik siklus süresi olan 56. günlerde yapılan Johnsen puanlamasında değerlerin yükseldiği gösterilmiştir (10). Fertilitenin geri dönüşü yeterli sayıda hayatta kalmış kök hücrelerine bağlıdır. Bizim çalışmamızda da A spermatogonyumlarının cisplatinden etkilenmediği görülmüştür. Bunların tekrar çoğalıp differansiye spermatojenik hücreleri oluşturması cisplatinin testis dokusuna etkisinin geri dönebilir olduğunu göstermektedir.

SONUÇ

Bu çalışmanın sonucunda hücre siklusuna özgü olmaksızın DNA sentezini baskılayarak sitotoksik etki gösteren cisplatinin mutad insan tedavi dozunda histopatolojik olarak böbreklerde başlıca korteks - dış medulla bölgesindeki proksimal tüp epitelini, daha az oranda distal tüpleri etkilediği görüldü. Ancak özellikle proksimal tüp epitelinden beklenen rejenerasyon yeteneği nedeniyle hasarın kalıcı olmadığı; cisplatinin testisler üzerindeki etkisinin ise B spermatogonyumlar ve spermatidler üzerinde yoğunlaştığı, A spermatogonyumların sağlam görünmesi nedeniyle bunların daha sonra mitozlarla çoğalacakları düşünülmektedir. İlacın etkisinin geri dönüşümlü olduğu sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR:

1. Kayaalp O: Tibbi Farmakoloji, 1994; 1:1047
2. Pogach L.M., Lee Y, Gould S. ve ark.: Characterization of cis-platinum-Induced Sertoli cell dysfunction in rodents. *Tox App Pharm*,1989; 98:350-361.
3. Ivan D.: Clinical evaluation of the infertile couple. In: *Pathology of Infertility*. Mosby-Year Book, 1993 : 7-42.
4. Orfila C., Bompert G, Lepert C ve ark.: Renal immunolocalization of kallikrein in cisplatin nephrotoxicity in rats. *Histochem J*. 1993;25:772-77.
5. Reznik L.V., Gambaryan S.P.: Protective effect of anti – inflammatory corticosteroid triamcinolone in cisplatin nephrotoxicity. *Renal Physiol Biochem*. 1994; 17: 50-56
6. Yasumasu T., Ueda T, Uozumi J.: Ultrastructural alterations and DNA synthesis of renal cell nuclei following cisplatin or carboplatin injection of rats. *J.Pharm. Pharmacol.*, 1992; 44: 885-887.
7. Bompert G., Orfila C, Manuel Y.: Cisplatin nephrotoxicity in cadmium-pretreated rats. *Nephron*. 1991; 58: 68-74.
8. Heyman S., Rosen S, Silva P.: Protective action of glycine in cisplatin nephrotoxicity. *Kidney International*, 1991; 40: 273-279.
9. Russell L.D., Russell J.A.: Short-term morphological response of the rat testis to administration of five chemotherapeutic agents. *The American Journal of Anatomy*. 1991;192: 142- 168.
10. Nonomura M., Okada K, Hida S. ve ark.: Does a gonadotropin-releasing hormone analogue prevent cisplatin-induced spermatogenic impairment? *Urol Res.* , 1991; 19: 135-140.