

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL EĞİTİM ve ARAŞTIRMA HASTANESİ
ÜROLOJİ KLİNİĞİ

ŞEF: Doç. Dr. S.Erdinç ÜNLÜER

**VARİKOSELLİ İNFERTİL HASTALARDA İTERNAL SPERMATİK VEN
DUVARINDA NOS İZOFORMLARININ EKSPRESYONU VE PERİFERİK
VEN İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. M. Emin ÖZYALVAÇLI
Uzmanlık Tezi
Eylül 2009

A) ÖNSÖZ ve KISALTMALAR	2
B) GİRİŞ ve AMAÇ	5
C) GENEL BİLGİLER	
1. Bölüm	
• <i>Testis Embriyolojisi</i>	8
• <i>Testis Anatomisi</i>	11
• <i>Testis Histolojik Yapısı</i>	12
• <i>Erkek Üreme Fizyolojisi</i>	15
• <i>Testis Vasküler Anatomisi</i>	18
• <i>Endotel Hücre Anatomisi ve Fizyolojisi</i>	23
2. Bölüm	
• <i>Nitrik Oksit ve Nitrik Oksit Sentaz</i>	25
• <i>Genitoüriner sistemde Nitrik Oksit'in Yeri</i>	34
3. Bölüm	
• <i>Varikozel</i>	
➤ <i>Erkek İnfertilitesindeki Yeri</i>	37
➤ <i>Etiyolojisi ve Prevelansı</i>	38
➤ <i>Patofizyolojisi</i>	40
➤ <i>Tanısı</i>	46
➤ <i>Tedavi Endikasyonları ve Tedavisi</i>	50
D) GEREÇ ve YÖNTEMLER	
• <i>Çalışma Grubu</i>	54
• <i>Teknik Metot</i>	55
• <i>İstatistik ve Analiz</i>	59
E) BULGULAR	60
F) TARTIŞMA	72
G) SONUÇLAR	78
H) KAYNAKLAR	79

ÖNSÖZ

Hastanemizde eğitime önem veren, bizlere çağdaş çalışma, araştırma ve eğitim olanakları sağlayan başhekimimiz Op. Dr. Özgür Yiğit'e,

Asistanlık sürem boyunca ürolojiyi bana sevdiren, sahip olduğu bilgi ve tecrübesiyle, insani değerleri ve hoşgörüsüyle hatırlayacağım klinik şefim, değerli hocam Doç. Dr. S. Erdinç ÜNLÜER'e,

Asistanlığım süresince bilgi ve becerisini benden esirgemeyen klinik şef yardımcımız Op. Dr. M. Gökhan TOKTAŞ'a,

Asistanlığım süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan çekinmeyen, her zaman destek olduklarını hissettiren üroloji kliniğimizin değerli uzmanları Op. Dr. Vural SAÇAK'a, Op. Dr. Suat ÖZKAN'a, Op. Dr. Cemalettin MURAT'a, şimdi ayrı olsak da kendisiyle çalışmaktan hep haz duyduğum Op. Dr. Cabbar SARI'ya

Tezimi hazırlama döneminde, bölümdeki inanılmaz yoğunluğa rağmen büyük bir titizlikle ve bıkmadan bana her konuda destek olan yardıma ihtiyaç duyduğum en zor zamanlarda beni hiçbir zaman geri çevirmeyen, günün her saatinde kendisine ulaşabildiğim, fedakarlığını unutmayacağım tez danışmanım Op.Dr. Erkan ERKAN'a,

Gecenin geç saatine kadar patoloji laboratuvarında beni yalnız bırakmayan ve tezimin hazırlanmasında en çok emeği geçenlerden biri olan hastanemizin değerli patoloğu Uz.Dr. Gülben Erdem Huq'a,

Asistanlık süresince asistan olarak beraber çalışmaktan mutluluk ve onur duyduğum, bilgi ve becerilerini benimle paylaşan ve şu anda ülkemizin farklı yerlerinde uzman olarak hizmet eden Op.Dr.E.Kemal KÜÇÜK'e, Op.Dr.Umut

KARSLI'ya, Op.Dr. Yılmaz FIRINCIOĞULLARI'na, Op.Dr.Levent Türk'e, Op.Dr.H.Anıl ATALAY'a ve kendisini kesinlikle unutmayacağım değerli meslektaş abim Op.Dr.Ramazan KOCAASLAN'a

Gelecek dönemde kaliteli ve nitelikli bir üroloji uzmanı olacaklarını düşündüğüm asistan arkadaşlarım Dr.G.Çağrı ÖKTEM'e, Dr.Murat DEMİRAY'a, Dr.Salim KÜÇÜKPOLAT'a, Dr.Aziz TOKER'e ve Dr.Hüseyin KOÇAN'a

Çalışmalarımda ve asistanlık sürecimin her aşamasında titizlik ve özverileriyle teknik olarak destek sağlayan ve benden yardımlarını esirgemeyen tezimde emeği olan ameliyathane hemşireleri Hakan AGAR'a, Sibel KAYA'ya ve Sevinç ÇELİK'e, servis hemşireleri Perihan ABAY, Elvan ADLİM HABİBOĞLU, Evrim YILDIRIM, Nihal KOYUNCU ve servisimize yeni gelen ve bize çabuk ısındığını düşündüğüm Remziye ZEYVELİ'ye, sağlık memuru Gökhan ÇAKIR'a ve sekreter Can Bey'e

Maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olmasını istediğim sevgili eşim Uz.Dr.Gülzade Özyalvaçlı'ya ve canımdan çok sevdiğim biricik oğlum Bünyamin Mert'e,

Ömrüm boyunca haklarını ödeyemeyeceğim, bana her konuda destek olan, fedakar canım aileme en derin saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

KISALTMALAR

NO: Nitrik oksit

NOS: Nitrik oksit sentaz

eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentaz

iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

nNOS: Nöronal nitrik oksit sentaz

cGMP: Siklik guanilaz mono fosfat

EDRF: Endotelyal salınım faktörü

SOD: Süperoksit dismutaz

MİF: Müllerian İnhibitör Faktör

SRY: Seks belirleyici gen bölgesi

THB: Tetrehidrobiopterin

FAD: Flavın Adenin Dinükleotid

FMN: Flavın Mononükleotid

NMDA: N-Metil D-Aspartat

SRDU: Skrotal Renkli Doppler Ultrasonografi

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

GİRİŞ ve AMAÇ

Varikosel; ilk kez 1843'te Curling tarafından pleksus pampiniformis içerisindeki testiküler venlerin anormal dilatasyonu olarak tanımlanmıştır (1). Erkek infertilitesinin önemli bir nedeni olarak halen güncelliğini korumaktadır. İnfertilite şikayeti nedeniyle başvuranların ortalama %30-40'ında varikosel saptanmaktadır (2,3). Sekonder infertilite nedeniyle başvuran kişilerde varikosel sıklığı artarak %69-81'e kadar çıkmaktadır (4,5,6). Varikosel, erişkin erkek popülasyonunda ise ortalama %15-22 oranında saptanmıştır (7,8). Bununla birlikte varikosele sahip olguların %80'inde infertilite bulunmamaktadır (9). Varikoselin kalıtımla olan ilişkisini araştıran bir çalışmada varikoseli olan erkeklerin birinci derece akrabalarında hastalığın görülme sıklığı %53 gibi genel popülasyondan belirgin derecede yüksek oranda saptanmıştır (10). Günümüzde infertilite tanı ve tedavisi üzerine birçok çalışma yapılmasına rağmen tedavisi bilinen fakat nedeni halen bilinmeyen bu hastalığın infertilite ile olan ilişkisi de bir muammadır.

Nitrik oksit (NO), ilk kez 1979'da siklik guanilat monofosfat (cGMP) üzerinden etki gösteren periferik vasküler bir düz kas gevşetici olarak tanımlanmıştır (11). Endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) olarak adlandırılan molekülün tanımlanması, memelilerde NO'nun sentezinin aydınlatılmasında önemli bir anahtar rolü oynamıştır. NO'nun nörotransmisyon, vasküler tonusun düzenlenmesi, penil ereksiyon, bağışıklık sisteminin düzenlenmesi, trombosit agregasyonunun inhibisyonu, lökositlerin endotel hücrelerine yapışmaları ve enflamasyon olan dokuya göç etmeleri, damar geçirgenliğinin kontrolü, patojen ve tümöral hücrelere karşı sitotoksitate, düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve kollajen sentezi inhibisyonu gibi birçok önemli lokal ve sistemik etkileri vardır (12,13). NO, dolaşım sistemi üzerine

vazodilatör etki gösterir, bölgesel kan akımı ve sistemik kan basıncını düzenler, endotelde ateroskerozu önleyici etki yapar (14,15). NO sentezinin kontrolü Nitrik oksit sentaz (NOS) protein sentezinin veya sentezlenmiş enzimin aktivitesinin düzenlenmesi şeklinde gerçekleşir. NO üretilmesini sağlayan üç farklı NOS izoenzim tipi vardır (16). Nöronal NOS (nNOS veya NOS-I), indüklenbilir NOS (iNOS veya NOS-II), endotelyal NOS (eNOS veya NOS-III).

Yapısal bir enzim olan eNOS 'un uyarılmasıyla L-arjinin'den NO ile sitrüllin oluşur. Endotel hücre tarafından sentezlenen NO, diffüzyonla düz kas hücrelerine geçerek guanilat siklazı aktive edip cGMP seviyesini artırır ve düz kaslarda gevşemeyi sağlar. Kalsiyum pompalarının sitoplazmik kalsiyum derişimini düşürmesi ile eNOS aktivasyonu sona ereceğinden eNOS tarafından kısa süreli ve düşük derişimde NO sentezlenir. Aynı durumlar nNOS için de geçerlidir. Lipopolisakkaritler ve sitokinler gibi ajanların Ca²⁺'ya bağımlı olmadan NOS'u indüklemeleri, iNOS için söz konusudur. İlgili hücrede önceden NOS yoktur veya çok azdır. Bu indüksiyon sonucunda, enfeksiyon, enflamasyon veya vasküler travma durumlarında diğer iki NOS formunun ürettiğinin 100-1000 katı kadar NO üretimi sağlanır. Bu sistem özellikle makrofajlarda görülür. Bu tip enzim indüklenbilir NOS olarak adlandırılır. Dolayısıyla iNOS'un ürettiği NO seviyesi fizyolojik seviyeyi aşmaktadır. Hücresel süperoksit anyon (O²⁻) varlığında bu oldukça toksik olan peroksinitrit molekülünün oluşmasına neden olur. Bunun sonucunda da hücrede lipit peroksidasyonu, DNA fragmantasyonu, plazma antioksidanlarının azalması, protein hasarı ve endotelyal düz kas gevşemesi gibi yollarla hücresel hasar yaratabilir. Peroksinitrit oluşumu; süperoksit ile süperoksit dismutaz (SOD) üretimi ve NO üretimi/tüketimi arasındaki dengeye bağlıdır. Sonuç olarak düşük konsantrasyondaki NO, hücresel fonksiyonları pozitif olarak düzenlerken yüksek konsantrasyon hücre üzerinde toksik etkiler yaratabilir (17).

NO'nun dolaşım sistemindeki rolü son yıllarda birçok çalışmanın konusu olmuştur. Özellikle damar endoteli üzerine vazodilatatör etkisi artık çok iyi bilinmektedir. Fakat fizyolojik ortamlardaki etki ve durumunun bilinmesi yanında patolojik durumlardaki etki veya etkileşimlerinin de saptanması önemlidir. NO, aynı zamanda kadın ve erkek reprodüktif sistemin birçok fonksiyonunu regüle eden serbest bir radikaldır ve fizyolojik seviyelerin üzerinde sperm ve testis fonksiyonlarına ve steroid yapımı üzerine negatif etkileri olabilir. Aynı zamanda NO'nun seminifer túbüllerdeki miyofibroblastların gevşemesine aracılık etmesi ve böylece sperm transportu için gerekli olan seminifer túbüllerin peristaltik aktivitelerini düzenlemesi söz konusudur (18).

Bu çalışmadaki amacımız; erkek infertilitesinin önemli sebeplerinden sayılan varikozel durumunda NOS izoformları ve NO'nun etkisi ile bunların varikozel etiyolojisindeki yerini belirlemektir.

GENEL BİLGİLER

1.Bölüm

TESTİS EMBRİYOLOJİSİ

Gonadlar üç embriyonel kaynaktan köken alır:

- Mezotelyum (posterior abdominal duvarı döşeyen mezodermal epitel)
- Mezenşim (mezotelyum altındaki embriyonik bağ dokusu)
- Primordiyal germ hücreleri

Dördüncü haftanın başlarında, allantois kökü kenarındaki yolk sac'ın endodermal hücreleri arasında büyük ve küresel olarak pirimitif seks hücreleri görünür hale gelir. Beşinci haftada mezonefrozun venteromedial kesimindeki mezoderm kalınlaşmaya başlar. Altında kalan mezenşimin değişime uğramasıyla genital kabartı oluşur. Bu esnada yolk sac'ın arka duvarındaki primordiyal germ hücreleri dorsal mezenter boyunca genital kabartının içine göç ederler. Embriyo, katlanırken yolk sac'ın dorsal kısmı da embriyonun içine katılır. Altıncı haftada genital kabartıdan uzanan parmaksı epitelyal kordlar alttaki mezenşim içine doğru büyüyerek primordiyal germ hücreleri ile birleşirler. Bu safhaya kadar gonadlar morfolojik olarak farklılaşmamıştır (indiferansiye) ve dışta korteks, içte medulla kısmı vardır. Bu sırada embriyoda mezonefrik kanalların lateralinde, paramezonefrik (Müller) kanal adı verilen bir çift kanal gelişir. Kalınlaşmış çöломik epitelin girinti

yapmasından (invajinasyon) oluşan bu kanalların kaudal uçları yapışarak ürogenital sinüs ile birleşir. Kranial uçları ise çöломik boşluğa (gelecekteki periton) açılır.

‘Y’ kromozomunun üzerindeki seks belirleyici gen bölgesi (SRY)’nin etkisiyle pirimitif seks kordlarının medüller bölgesindeki hücreler sertoli hücrelerine farklılaşmaya başlarken kortikal bölgedeki hücreler dejenere olurlar. Yedinci haftada farklılaşan sertoli hücreleri testis kordlarını oluşturmak üzere organize olurlar. Germ hücreleri ile ilişkili bu kordlar pübertede seminifer tübüllerini oluşturacaklardır. Seminifer tübülün distalindeki testis kordları da bir lümen oluşturarak rete testisleri oluşturur. Gelişen gonadın medialinde rete testisin tübülleri mezonefrik kanaldan gelişen 5-12 adet duktuli efferentes ile birleşirler. Vas deferens de mezonefrik kanaldan gelişir.

Genital kabartının mezenşimal hücrelerinden 9-10. haftalarda SRY proteinine yanıt olarak leydig hücreleri gelişir. Bu hücreler testosteron üretir. Gelişimin erken evresinde testosteron, human koryonik gonadotropin (hCG) ile kontrol edilirken ilerleyen zamanda pitüiter gonadotropinler kontrolü ele alırlar. Leydig hücrelerinin testosteron salgılaması mezonefrik kanalların vaz deferense dönüşmesini sağlar.

Seminal veziküller distal mezonefrik kanallardan gelişirken prostat ve bulboüretal bezler ürogenital sinüsten gelişir.

İnguinal kanal, testisin karın içindeki konumundan skrotuma inmesi için karın ön duvarında bir yol oluşturur. Mezonefroz farklılaşırken, yedinci hafta dolaylarında karnın her iki tarafında gonadın alt kutbundan aşağı bir ligaman (gubernakulum) iner. Gubernakulum, gelişmekte olan karın ön duvarından çapraz olarak geçerek labioskrotal kabartıların iç yüzeyine tutunur. Bir periton uzantısı olan prosessus vajinalis, gubernakulumun ventralinde gelişir. Gubernakulumun oluşturduğu hat boyunca karın ön duvarından aşağı iner.

Fetüsün gelişimi esnasında testisler 10. torasik seviyedeki orijinal pozisyonundan aşağı doğru iner. Gonadların başlangıçtaki inişleri gubernaküluma bağlıdır. Testisler üçüncü aydan sonra iç inguinal halka seviyesine iner ve 7-9. aylar arasında skrotuma inişlerinin tamamlarlar. Testiküler iniş :

- Testislerin büyümesi ve mezonefrik böbreklerin atrofisinin karın arka duvarı boyunca testislerin hareketine olanak sağlaması
- Müllerian İnhibitör Faktör (MİF) etkisiyle paramezonefrik kanalların atrofisi ve bunun testislerin transabdominal olarak iç inguinal halkaya hareketini sağlaması
- Prosesus vajinalisin büyüyerek inguinal kanal içinden skrotuma doğru testise kılavuzluk etmesi ile ilişkilidir.

Testisler 26. haftada retroperitoneal olarak karın arka duvarından iç inguinal halka seviyesine iner. Bu iniş ve pozisyon değişikliği rölatiftir ve daha ziyade karın boşluğunun kraniyal kısımda kaudal kısmından daha fazla büyümesine bağlıdır. Bu iniş 2-3 gün sürer ve fetal testislerin ürettiği androjenlerin kontrolünde olur.

TESTİS ANATOMİSİ

Her testis erişkinde 15-20 cc hacminde ve longitudinal olarak 4,5-5,1 cm boyutundadır. Testis parankimi üç tabakadan oluşan kapsül ile çevrilidir. En dışta tunika vajinalisin visseral yaprağı, ortada tunika albuginea ve içte de tunika vasküloza bulunur. Kapsül aracılığı ile testis septalar ile kompartımanlara bölünür. Her bir septum ayrı bir seminifer tübül, interstisyum ve en az bir sentrifugal arter içerir. İnterstisyel doku sinir, kan ve lenfatik damarlar ile birlikte leydig hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlardan meydana gelir. İnsanlarda interstisyum, total testis volümünün %20-30 kadarını oluşturur.

Testisin somatik innervasyonu yoktur. İntermezenterik ve renal pleksustan otonom dallar alırlar. İnsan testis parankimi dakikada 100 mg doku için yaklaşık 9 ml kan ile beslenir. Sağ testis kan akımı 3,2 -38,5 ml/100 mg doku/dk, sol testis kan akımı 1,6-12,4 ml/100 mg doku/dk dır. Testisin kanlanması internal spermatik arter, deferensiyel arter ve kremasterik arter olmak üzere üç arterden sağlanır. Testiküler arter tunika albugineayı geçtikten sonra dalları ön tarafa, testis parankimi üzerinden transvers olarak geçecek şekilde testis parankimi arka yüzünde aşağı doğru iner. Ana testiküler arterin dalları testisin alt polüne kadar uzanır, ön tarafa geçer ve testis yüzeyine dış dallarını verir. Testisin mediastinal yüzünde yayılan spermatik arter testise girmeden önce aşırı kıvrımlı bir hal alır ve dallanma gösterir. Daha sonra spermatik arter, testiküler parankimi içinden geçerek sentrifugal arter serilerine ayrılır. Sonraki dallar, özel olarak intertübüler ve peritübüler kapillerleri besleyen bir çift arteriole ayrılır. Seminifer tübüller yanında ip merdiveni şeklinde uzanan dallar, peritübüler kapillerler olarak adlandırılırken, interstisyum kolonları içerisinde uzananlar, intertübüler kapillerler olarak adlandırılır. Testiküler kan akımı pek çok seviyede düzenlenmektedir. Arterlerin subkapsüler bölgesindeki miyojenik aktivite bunlardan biridir. Ayrıca toplam testiküler kan akımı nispeten sabit olmasına rağmen bölgesel kan akımı metabolik ihtiyaca göre değişmektedir.

TESTİS HİSTOLOJİSİ

Erkek üreme sistemi testisler, genital kanallar, yardımcı bezler ve penisten oluşmuştur. Testisin başlıca görevi erkek seks hormonları ve spermatozoa üretmektir. Testis, tunika albuginea denilen kalın bir kollajen bağ dokusu ile çevrilidir. T. Albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testisi oluşturur. Tunika albuginea esas olarak kollajen doku içine dağılmış çok sayıda dallanmış düz kas hücreleri içerir. Düz kas hücreleri T. Albuginea'ya kasılma özelliği kazandırır. Bu kasılmalar ile hem testise kan akımı ayarlanır hem de seminifer tübül sıvısının testis dışına atılması sağlanır. Burada bezin içerisine giren fibröz septalar bu yapıyı testisküler lobüller denilen yaklaşık 250 adet piramidal bölmeye ayırır. Her lobülde gevşek bağ dokusuyla sarılı 1-4 seminifer tübül yer alır. Bu bağ dokusunda bol miktarda kan ve lenf damarı, sinir ve interstisyel (leydig) hücre bulunur. Seminifer tübüller erkek üreme hücreleri olan spermatozoayı üretir. Leydig hücreleri ise testiküler androjenleri salgılar.

Testisler karın boşluğunun arka duvarında retroperitoneal olarak gelişirler ve daha sonra ise spermatik kordonların sonunda skrotumda asılı olarak bulunurlar. Her biri tunika vaginalis denen seröz bir kese taşırlar. Bu kese peritondan gelişir. Dışta pariyetal ve içte ise bir visseral tabakadan oluşarak testisin ön ve yanlarından Tunika Albuginea'yı sarar. Skrotumun, testislerin normal vücut sıcaklığından daha düşük bir sıcaklıkta olmasında önemli rolü vardır. Testisteki seminifer tübüller ya kör uçludur yada dallara ayrılırlar. Her bir tübül sonlanırken lümen daralır ve düz tübüller veya tubuli rekti adıyla bilinen kısa segmentler halinde sürer. Bu düz tübüller, rete testis denilen epitel ile kaplanmış kanalların oluşturduğu labirente seminifer tübüllerin bağlanmasını sağlar. Rete testis, 10-20 duktuli efferentes ile epididimin baş kısmına bağlanmıştır.

Seminifer túbüller bir fibröz bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve karmaşık bir germinal veya seminifer epitelden oluşur.

Seminifer túbül epiteli iki hücre tipinden meydana gelir: Sertoli hücreleri ve spermatogenik seriyi oluşturan hücreler. Spermatogenik hücreler, bazal lamina ve túbül lümeni arasını dolduran 4-8 tabaka halinde düzenlenmişlerdir. Bu hücreler, belirli sayıda bölünmeden sonra farklılaşır ve spermatozoayı oluştururlar. Bunlar erkek germ hücrelerinin sürekli farklılaşma sürecindeki çeşitli evrelerini temsil ederler. Başlangıçtan bitişe kadar bu olaya spermatogenez adı verilir.

Sertoli hücrelerinin sekiz önemli fonksiyonu vardır:

1. Gelişen spermatozoanın desteklenmesi, korunması ve beslenmesinin ayarlanması.
2. Artık cisimlerin fagositozu
3. Salgı (Protein sentezi, androjen bağlayıcı protein, steroidler, inhibin)
4. Antimülleriyen hormon yapımı
5. Kan testis bariyeri ve bunun kontrolü
6. Leydig hücreleri ve peritúbüler hücrelerin fonksiyonunda parakrin kontrol
7. Germ hücrelerinin lümene doğru pasif hareketlerinin sağlanması (spermiasyon)
8. Spermatogenezin parakrin kontrolü

Leydig (interstisyel) hücreleri; yuvarlak, poligonal, merkezi bir çekirdekçiği bulunan eozinofilik sitoplazmalı ve küçük lipid taneciklerinden zengin hücrelerdir. Bu hücreler, sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonu olan testosteronu üretirler

Epididim uzun ekseni boyunca testisin arka kısmında yerleşmiş olup, testisin alt kutbunda duktus deferense dönüşür. Baş, gövde ve kuyruk olmak üzere üç kısımdan oluşur. Epididim çok katlı yalancı (psödostratifiye) epitelle döşeli ve etrafı düz kasla çevrili yapıdan oluşur. Temel fonksiyonu spermatozoaların depolanması ve olgunlaştırılmasıdır. Ayrıca spermatozoanın hareket kazandığı yerdir.

Dış genital kanallar:

Testiste üretilen spermatozoaları penil yollara doğru taşıyan kanallar; tubuli rekti, rete testis, duktus epididimis, duktus deferens (vaz deferens), duktus ejakulatorius ve üretradır.

ERKEK ÜREME FİZYOLOJİSİ

Erkek üreme fonksiyonu hipotalamus, hipofiz ve testisler olarak üç organ tarafından düzenlenmektedir. Bu organlardan ilki olan hipotalamusta, “Gonadotropin Releasing Hormon” (GnRH) salgılayan hücreler bulunur ve bu hücreler amigdala, her iki olfaktor bölge ve vizüel korteksi içeren beyin bölgelerinden gelen uyarılardan etkilenir. GnRH, mevsimsel, sirkadiyen ve 90-120 dk. arasında pulsatil salınım gösterir. Mevsimsel ve sirkadiyen salınım, pineal gland ve suprakiazmatik nukleusdan gelen nöral bağlantılardan salgılanan melatonin ile kontrol edilmektedir. Salgısal bir yapı gösteren adenohipofiz (ön hipofiz) üreme sistemi için önemli olan Folikül Uyarıcı Hormon (FSH) ve Lüteizan Hormon (LH), Adrenokortikotropik Hormon (ACTH), Prolaktin, Büyüme hormonu ve Tiroid Uyarıcı Hormon (TSH) salgılar.

Plasental hCG etkisi ile leydig hücrelerinde steroidogenezin başlaması, erkek embriyonal yapının farklılaşmasını sağlar. Puberteye kadar sessiz kalan leydig hücreleri, yaklaşık 12 yaş civarında noktürnal melatonin sentezinin azalmasına bağlı olarak artan GnRH salınımının başlaması ile yeniden aktifleşirler. Pubertenin başlamasında, büyüme hormonu ve İnsulin Benzeri Büyüme Faktörü (ILGF) de rol oynar.

Hipofizden salınan LH, esas olarak leydig hücrelerinden testosteron salgılar ve seminifer tübül etrafında yüksek konsantrasyonda (serum konsantrasyonunun yaklaşık 200 katı) testosteron bulunmasını sağlar ki bu spermatogenez için çok önemlidir. Germ hücreleri FSH ve testosteron reseptörleri içermediğinden bunların esas etki alanı Sertoli hücreleridir.

FSH'nın spermatogonium hücreleri üzerine olan uyarıcı etkisi sayesinde Sertoli hücreleri spermatogenezde ana düzenleyici rolü oynar. Testosteron, sertoli hücrelerinin spermatidlere yapışmasını, dolayısıyla spermogenez indükler. Östrojen reseptör fonksiyonu, normal spermatogenezin gerçekleşmesi için gereklidir. Tiroid hormonlarının da sertoli hücreleri aracılığıyla endirekt olarak spermatogenezi etkilediği bilinmektedir.

Spermatogenez :

Seminifer tübül bazal membranında oturan spermatogoniumlar, küçük diploid germ hücreleridir. Puberteye kadar bölünmezler. Pubertede spermatositogenez başlar, spermatogoniumlar mitoz bölünme ile çoğalarak yerine gelecek spermatogoniumları ve primer spermatositleri oluşturur. Üç tip spermatogonium vardır :

- ***Koyu tip A hücreler:*** Koyu bazofilik boyanan oval heterokromatik çekirdeğe sahiptirler. Seminifer epitelin rezerv hücreleridirler. Düzensiz aralıklarla bölünerek hem koyu hem de açık tip A spermatogoniumları oluştururlar.
- ***Açık tip A hücreler:*** Çekirdeklerinin soluk görünümü dışında koyu tip A hücreleri ile aynı özelliktedirler. Testosteron etkisiyle bölünerek açık tip A ve tip B hücreleri oluştururlar.
- ***Tip B hücreler:*** Mitozla bölünerek primer spermatositleri meydana getirirler

Primer spermatozoidler oluştuktan kısa bir süre sonra bazal kompartımandan çevre (adluminal) kompartımana göç ederler. Bu hücreler mayoz başlamadan önce DNA'larını replike ederler. Böylece her bir primer spermatozoid diploid kromozoma ve $4n$ miktarında DNA'ya sahip olurlar. Ardı ardına gelen iki mayoz bölünme, hem kromozom sayısında hem de DNA miktarında azalma ile sonuçlanır. Birinci mayoz bölünme sonunda $2n$ miktarda DNA'ya ve haploid kromozoma sahip iki adet sekonder spermatozoid oluşur. İkinci mayoz bölünme sonucunda da her bir sekonder spermatozoidten iki adet spermatid oluşur. Bundan sonra bölünme olmaz. Haploid spermatidler, olgun spermiumu meydana getirecek olan spermatogenez olarak adlandırılan bir farklılaşma sürecine girer. Yoğun transformasyonun gerçekleştiği bu süreçte çekirdek karakteristik şeklini alır, artık sitoplazma sertoli hücrelerinde elimine edilir, akrozom ve kuyruk gelişimi gerçekleşir.

TESTİS VASKÜLER ANATOMİSİ

Testiküler-skrotal arter sistemi: Testisler, üç ayrı arteriyel sistem tarafından beslenir.

1. İnternal spermatik (Testiküler) arter
2. Eksternal spermatik (Kremasterik) arter
3. Deferenşiyel (Vazal) arter

İnternal spermatik (testiküler) arter: Testisin ana arteridir, testis kan akımının yaklaşık %70'ini sağlar. Abdominal aortadan, renal arterin hemen altından anterolateral yüzden çıkar, posteriorda periton dış yüzünde ilerler, üreter ve eksternal iliak arterin alt kısmını çaprazlayarak inguinal kanal iç halkasında spermatik korda katılır. Kordda internal spermatik fasya içinde seyrederek Testise girmeden önce skrotal seviyede yüksek oranda kıvrılma ve dallanma gösterir ve epididimal dalları verir.

Eksternal spermatik (Kremasterik) arter: Testis kan akımının yaklaşık %15'ini sağlar, esas olarak tunika vajinalisi besler. A. iliaka eksterna'nın dalı olan a. epigastrika inferior'dan iç inguinal halka içinde ayrılır, testiküler mediastinumda internal spermatik ve deferenşiyel arterlerle anastomoz yapar, tunika vajinalis üzerinde ağ yaparak sonlanır.

Deferenşiyel (Vazal) arter: Testis kan akımının yaklaşık %15'ini sağlar, a. iliaka interna'nın uç dalı olan a. vezikalis süperior veya inferior'dan çıkar, vaz deferens ve epididimisin globus minör'ünü besler, testise yakın yerde internal spermatik arterle anastomoz yapar. İnternal spermatik arter bağlanırsa kremasterik arterinde katkısıyla testis kan akımını artırarak regülasyonu sağlar.

Testiküler-skrotal venöz sistem: Testiküler venöz drenaj dört ayrı sistem vasıtasıyla olmaktadır.

1. İnternal spermatik (Testiküler) ven,
2. Eksternal spermatik (Kremasterik) ven
3. Deferenseyel (Vazal) ven
4. Guberneküler ven

İnternal spermatik (Testiküler) ven: İnternal spermatik artere eşlik eder, solda renal vene dik olarak, sağda v. cava inferiora çapraz olarak açılır. İnce duvarlı ve zayıf bir kas tabakası olduğu için durgunlaşma eğilimi gösterir. Sol internal spermatik ven, daha yüksek konumu ve sol testisin daha aşağı pozisyonu nedeniyle sağdakinden 8-10 cm daha uzundur. İnter inferior vena cava'nın daha fazla akmasıyla olan bir çekiş etkisi, sağdaki drenajı arttırdığı düşünülmektedir.

Deferenseyel (vazal) ven: Vaz deferense eşlik eder, süperior ve inferior vezikal venler yoluyla internal iliak vene dökülür.

Eksternal spermatik (kremasterik) ven: Spermatik kordun posteriorunda yer alır, dış inguinal halka bölgesinde inferior epigastrik venlere ve yüzeysel eksternal ile derin pudental venler yoluyla eksternal iliak ven'e açılır.

Gubernaküler ven: Eksternal pudental ven ve oradan da safen ven yoluyla eksternal iliak ven'e dökülür.

Pleksus pampiniformis: İntratestiküler küçük venler, testisin yüzeysel venlerine; rete testis ise hiler venlere açılır. Daha sonra testis ve epididimden kaynaklanan venler, mediastinumdan çıkar ve duktus deferensin önünde ve testiküler arter etrafında 8-12 venden oluşan bir grup halinde serbest anastomoz yapan 3 ayrı ven grubu

pampiniform pleksusu oluşturur. Pampiniform pleksustaki yapı, bazı alanlarda sadece damar duvarlarının kalınlığı ile ayrılan karşılıklı akan arter ve venlerle, ısının ve küçük moleküllerin değişimini kolaylaştırır (19). Testosteron konsantrasyon farklılığına göre pasif diffüzyonla venden artere taşınır (20). Spermatik kordda, ısının karşılıklı akımla değişimi, normal bireylerde rektal ısıdan 2-4 °C daha düşük olan testise kan sağlayarak ısı regülasyonuna katkıda bulunur (21). Pampiniform pleksus, epididim ve skrotal duvarın drenajını sağlayan kremasterik pleksus ve deferensiyel ven sistemi arasında, skrotum ve inguinal kanal seviyesinde anastomozlar vardır. Pleksuslar, tekrar kendi aralarında birleşerek venleri oluştururlar. Böylece deferensiyel ve kremasterik gruplar, internal spermatik ven grubunun ligasyonundan sonra testisten venöz dönüş için kollateral yol sağlamış olur.

Venös System Anastomozları: Venöz drenaj iki anastomoz sistemi yoluyla meydana gelmektedir. Bunlar testiküler, kremasterik, deferensiyel, skrotal, gubernaküler, eksternal pudental, süperfisyel sirkümfleks, safen, femoral venler yoluyla olan bir yüzeysel sistem ve penil, krural, üreteral, obturator, renal kapsüller, kolonik, lumbar venler yoluyla olan bir derin sistemden oluşmaktadır. Ayrıca sağ-sol arasında üreterik (L3-5), spermatik, skrotal, retropubik, sakral seviyelerde anastomozlar oluşmaktadır (22,23,24). Yapılan anatomik çalışmalar, sağ ve solda tek bir gövde olan spermatik venlerin L4 seviyesinde medial ve lateral bölümlere ayrıldığını ortaya koymuştur. Medial parça, sağda vena cava inferiora, solda renal vene açılır, medialde üreteral venlerle anastomoz yapar ve karşı spermatik venle L3 seviyesinde çapraz ilişki kurar (%55). Lateral parça, kolon venleriyle (%76), renal kapsül venleri ile (%100) anastomoz yapar ve perinefrik yağlı dokuda sonlanır. Ana trunkus bifurkasyonu L4 seviyesindedir, L4 seviyesi üzerinde yapılan uygulamalar spermatik venin dallanmaları nedeniyle nüks için yüksek risk taşır. İdeal varikozel oklüzyon/ligasyon alanı L4 altı olmalıdır. Yüksek ligasyon alanı bu bölgeye uymaktadır.

Varikozelin tedavi riskini en aza indirmek için çok değişken olan testis venöz anatomisinin iyi bilinmesi gerekir. Varikozektomi sonrası nükslerin %89'unun cerrahi veya perkütan oklüzyon bölgesini "by-pass" yapan kollaterallere bağlı olduğu

gösterilmiştir. İnternal spermatik ven dallarının %60, eksternal spermatik venin %30 ve gubernaküler venin %0-10 oranlarında nükslerden sorumlu olduğu bildirilmiştir (25,26). Bunun yanında, testiküler atrofi arteriyel olduğu gibi, testis venöz dolaşımının tümünün kesilmesine bağlı da oluşabilir. Post-operatif erken dönemde gelişen epididimit tablosu venöz veya arteriyel infarkta bağlı olabilir. Bu da sonuçta testiküler atrofi ile beraber semen kalitesinde bozulmaya neden olur. Testisin arteriyel ve venöz kan akımının iyi bilinmesi ve mikrocerrahi yaklaşım vasküler hasara bağlı testiküler atrofiyi ve nüksü önleme açısından gereklidir. Optik büyütme tüm kord yapılarının belirlenmesine imkan verir. Arter ve lenfatiklerin korunmasını sağlar ve rekürrens riskini azaltır (27). Amerikan Üroloji Birliği (AUA) “Best Practice Policy Committee” varikosektomi sırasında anatomik yapıları etkin bir şekilde belirleyebilmek için optik büyütme kullanılmasını tavsiye etmektedir (28).

SPERMATİK KORD MİKROANATOMİSİ

İnguinal ve subinguinal diseksiyonlarda optik büyütme kullanılarak spermatik kord yapıları aşağıda anlatıldığı şekilde bulunmuştur.

Gubernaküler ven: İnguinal diseksiyon sırasında %79, subinguinalde ise %71 oranında bulunmuştur. İnguinal ve subinguinal seviyelerde sol/sağ kordda bulunma oranları yüzde olarak sırasıyla (86/64) ve (70/60)'dir. İnguinal diseksiyonda, gubernaküler venin yarı çapı ≥ 2 mm %48, subinguinalde ise %40 oranında bulunmuştur (29).

Eksternal spermatik ven: İnguinal diseksiyon sırasında eksternal venin yarı çapı ≥ 2 mm %74, subinguinalde ise %93 oranında bulunmuştur ($p < 0.05$). Yarı çapı ≥ 5 mm inguinal seviyede belirlenmemiş, subinguinalde ise %5 oranında bulunmuştur. Eksternal spermatik venin, inguinal kanal medial tabanından %37 oranında ayrıldığı gözlenmiş, bunların ancak testis doğurtulmadan önce %19'u belirlenebilmiştir (26). Subinguinalde ise her kordda yarı çapı ≥ 5 mm ve ven sayısı ortalama 5.4 adet olarak bulunmuştur (30).

İnternal spermatik ven: İnguinal seviyede her kordda yarı çapı ≥ 5 mm (büyük) ven sayısı 1.9, 2-5 mm arası yarı çaplı (orta) ven sayısı 2.2, yarı çapı ≤ 2 mm (küçük) ven sayısı 4.7 olarak, subinguinal seviyede sırasıyla 0.4, 2.8, 7.9 olarak bulunmuş. Toplam ven sayısı inguinal seviyede 8.7 iken subinguinalde 11.1 olarak bulunmuştur. İnguinal seviyede büyük ven sayısı subinguinal seviyenin yaklaşık 5 katı kadar iken, küçük ven sayısı yarısı kadardır. Subinguinal seviyede her kordda ortalama maksimum ven boyutu 4.4 mm olarak bulunmuş, maksimum ven boyutunun klinik varikosel derecesi ile ilişkili olmadığı ancak yarı çapı ≥ 2 mm olan internal spermatik ven sayısının pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir ($p < 0.001$) (26,30).

ENDOTEL HÜCRE ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ

Endotel, vasküler sistemin iç yüzeyini döşeyen tek tabaka halinde dizilmiş hücrelerden meydana gelir. Endotel tabakası, 10-15 µm genişliğinde ve 20-25 µm uzunluğunda uzamış çekirdeklerden meydana gelir, kan ile vasküler doku arasında seçici geçirgen bir bariyer oluşturur. Bariyer oluşturmada endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantı birimleri ve gerim liflerinin rolü oldukça büyüktür. Ayrıca endotel hücrelerinin kendileri de veziküler transportu regüle ederek bir bariyer oluşturmaktadırlar. Örneğin; iyonlar, glikoz, küçük organik solütler ve aminoasitlerin seçici transport mekanizmaları aracılığıyla endotel hücresi tarafından kontrol edilmesi de bariyer olarak kabul edilmektedir. Gaz geçirgenliği oldukça fazla olan bu katmanın sıvı geçirgenliği ise azdır. Fizyolojik koşullarda solunum gazları, su, glikoz, yağ asitleri, aminoasitler ve aterojenik olmayan küçük lipoprotein molekülleri arter endotelinden geçerler.

Endotel vasküler doku ile kan arasında seçici bir bariyer oluşturmaktan başka homeostaziste de çok önemli işlevleri olduğu bilinmektedir. Endotel hücreleri, salgıladıkları mediyatörler ile koagülasyonu, fibrinolizi, damar tonusunu, dolayısı ile kan akışı ve kan basıncını etkileyerek çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda rol oynayan aktif hücrelerdir. Yaygın bir şekilde endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak da bilinen NO, prostasiklin (PGE₂), endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF), endotelin, ATP ve hücre ile ilgili molekülleri üretir. Endotel, renin-anjiyotensin sisteminde de rol oynamaktadır ve anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) ve peptidazları da üretmektedir. Bu mediatörlerin koordineli bir şekilde çalışmasıyla ve vazokonstriktör ve vazodilatör etkilerin dengelenmesiyle doku kanlanması sağlanır. Endotel hücreleri aksiyon potansiyeli oluşturamadıkları için uyarılamayan hücreler sınıfına girer.

Genel olarak endotel hücrelerinin fizyolojik etkileri ve buna neden olan mediatörler tablo 1'de verilmiştir.

ETKİLER	MEDİATÖRLER
<i>Damar tonusunun ayarlanması</i>	Prostasiklin (↓), Nitrik oksit (↓), Endotel kökenli hiperpolarize edici faktör (↓) Endotelin (↑↑)
<i>Düz kas hücre büyümesinin ayarlanması</i>	Heparin benzeri moleküller (↓), Nitrik oksit (↓↓) TGFβ (↓) Platelet kökenli büyüme faktörü A/B (↑)
<i>Seçici geçirgenlik bariyeri</i>	Junctional proteinler Endositik reseptörler Hücre yüzeyi glikokaliksi
<i>Lökosit üzerine etkisi</i>	İndüklenebilir ELAM'lar (selektinler, ICAM-1, VCAM-1) Kemoatraktan/aktivatörler (IL-8, MCP-1, PAF)
<i>Tromborezistansın düzenlenmesi</i> Antitrombosit Antikoagülan Profibrinolitik Antifibrinolitik	Prostasiklin, Nitrik oksit Heparin benzeri proteoglikanlar, Trombomodülin Doku plazminojen aktivatörü, Plazminojen aktivatör inhibitörü-1

Tablo 1: ↑ : Artma ↓ : Azalma ELAM; endotelysel lökosit adezyon molekülü, ICAM; hücreler arası adezyon molekülü, IL; interlökin, MCP; monosit kemoartırıcı protein, PAF; trombosit aktive edici faktör, TGF; transforme edici büyüme faktörü, VCAM; damar hücresi adezyon molekülü.

2. Bölüm

NİTRİK OKSİT ve NİTRİK OKSİT SENTAZ

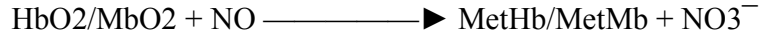
Nitrik Oksitin Yapısı: Nitrik oksit, renksiz bir gaz olup, serbest radikal özelliğine sahip basit bir moleküldür. Diğer radikal türlerin aksine (örneğin oksijen ve karbon merkezli radikaller), nitrik oksit radikalinde paylaşılmamış elektron nitrojen atomu üzerinde yerleşik değil; fakat nitrojen ve oksijen atomları üzerinde lokalize olmayan bir şekilde bulunur. Nitrik oksit radikalinin bu özelliği kendi reaktivitesini baskılar, stabilitesini artırır ve biyolojik koşullarda sentezlendiği yerden daha uzak mesafelere diffüzyonunu kolaylaştırır.

Vücutta üretilen NO'yu ortamdan uzaklaştırmak için özel bir enzimatik koruma mekanizması yoktur. Bu durum, NO'nun kalıcı ya da uzun ömürlü bir bileşik olduğu anlamına gelmez. NO, reaktif özelliği nedeniyle protein yapıdaki ya da diğer çok çeşitli bileşiklerle tepkimeye girdiğinden saniyelerle ifade edilebilecek bir ömre sahiptir. NO, 5-15 saniyelik ömrü boyunca zikzak şekilde hareketlerle 150-300 µm uzaklığa diffüzyonla ulaşabilir. Bundan dolayı 4-5 µm çapındaki hücreleri yaklaşık 2-20 milisaniye içinde terk ederek komşu hücrelere ulaşabilir ve her zaman konsantrasyonu yüksek olan yerden düşük olan yere doğru net bir diffüzyon yapar (31).

NO'nun kısa ömürlü olmasından 2 mekanizma sorumludur:

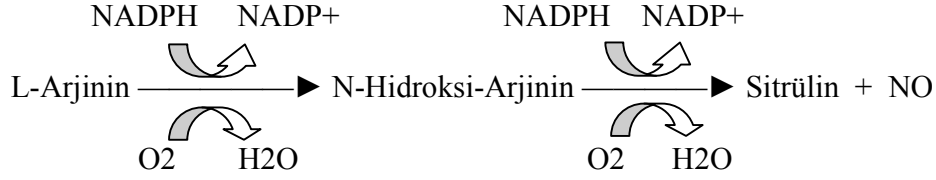
Kendiliğinden oksidasyon tepkimeleri. NO molekülleri kendi aralarında ve oksijen ile tepkimeye girer. NO'nun gaz fazı ve aerobik sulu fazda gerçekleşmesi mümkün olan tepkimeleri sırasında önce bir grup reaktif nitrojen oksit türleri oluşur ve bu türler ortamdaki biyomoleküllerle tepkimeye girebilirler veya nitrit oluşturmak üzere bozulurlar.

Normal koşullarda NO'nun fizyolojik derişimini kontrol eden en önemli faktör, NO ile oksihemoglobin arasındaki tepkimedir. Oksihemoglobin ve oksimyoglobin büyük hızla NO ile tepkimeye girerek nitrik oksiti inert bir form olan nitrata oksitlerler:



NO'nun cGMP üzerinden güçlü bir periferik vasküler bir düz kas gevşetici olduğu 1979'da tanımlanmıştır (11). Endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) olarak adlandırılan molekülün tanımlanması, memelilerde NO'nun sentezinin aydınlatılmasında önemli bir anahtar rolü oynamıştır. EDRF'den önce asetilkolin (Ach), bradikinin ve ATP'nin kan damarlarında dilatasyona neden olduğu ve bu etkinin damarlardaki endotel hücrelerinin varlığına bağlı olduğu biliniyordu. Damarlardan endotel hücrelerinin uzaklaştırılması asetilkolinin etkisini önlemekte veya azaltmakta; bu damarlara endotel hücreleri intakt olan aortik parçalar uygulandığında asetilkolinin etkisi tekrar geri kazanılmaktaydı. Bunun gibi çalışmalara göre ERDF'nin ömrünü ve etkisini uzatırken; süperoksit, hemoglobinin, metilen mavisi, demir (Fe^{2+}) ve hiperoksi ERDF'nin ömrünü kısaltıyor ve etkisini inhibe ediyordu.

NO sentezi için kullanılan öncül biyomolekül arjinin aminoasididir. Nitrik oksit'in arjininden sentezi, *nitrik oksit sentaz* (NOS) enzimi üzerinde iki basamakta gerçekleşir. Tepkimenin ilk basamağında arjininin guanido nitrojeni ($\text{N}\omega$) hidrosillenerek $\text{N}\omega$ -Hidroksi arjinin (N-OH-Arjinin) oluşur. Bu ara ürün oldukça stabildir ve istenirse tepkime ortamından izole edilebilir. Enzime sıkı bağlı olan ara ürün, ikinci aşamada sitrülün ve nitrik oksite çevrilir.



Nitrik oksit, çok yönlü bir biyolojik haberci molekül olup farklı biyolojik etkilere sahip olabilen bir kimyasal türdür. NO'nun nörotransmisyon, vasküler tonusun düzenlenmesi, penil ereksiyon, immün sistemin düzenlenmesi, platelet agregasyonunun inhibisyonu, lökositlerin endotel hücrelerine yapışmaları ve enflamasyon olan dokuya göç etmeleri, damar geçirgenliğinin kontrolü, patojen ve tümoral hücrelere karşı sitotoksiste, düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve kollajen sentezi inhibisyonu gibi bir çok önemli lokal ve sistemik etkileri vardır (12,13). NO, dolaşım sistemi üzerine vazodilatatör etki gösterir, bölgesel kan akımı ve sistemik kan basıncını düzenler, endotelde ateroskleroza önleyici etki yapar (14,15). Ayrıca NO, nitrik oksit gen transkripsiyonu, mRNA translasyonu ve sentez sonrası protein modifikasyonları üzerine etkili olur. Yüksek derişimdeki NO; parazitleri, tümör hücrelerini, mikroorganizmaları ve normal vücut hücrelerini öldürme ve tahrip etme yeteneğine sahiptir. NO sentezinin kontrolü NOS-protein sentezinin veya sentezlenmiş enzimin aktivitesinin düzenlenmesi şeklinde gerçekleşir.

Nitrik Oksit Sentaz Çeşitleri ve Etkileri : NO üretilmesini sağlayan üç farklı NOS izoenzim tipi vardır (16).

- Nöronal NOS (nNOS veya NOS-I)
- İndüklenebilir NOS (iNOS veya NOS-II)
- Endotelial NOS (eNOS veya NOS-III)

Ayrıca nNOS ve eNOS'a yapısal NOS denilir. Yapısal enzimlerin aktiviteleri mutlak olarak Ca^{2+} /kalmodülin bağımlıdır. NOS konsantrasyonu düzenli bir şekilde dalgalanmalar gösterir ve bu da eNOS ve nNOS tarafından kontrol edilir.

Nitrik Oksit Sentaz'ın Uyarılması: Enzim iki şekilde uyarılmaktadır

Yapısal tipe özgü olarak: Asetilkolin gibi bir haberci, endotel hücresi üzerindeki reseptörüne yapışır ve bu impulsla Ca^{2+} iyon kanalları açılarak, hücre içi Ca^{2+} düzeyi yükselir. Ardından Ca^{2+} 'nın kalmoduline bağlanmasıyla oluşan kompleks, yapısal bir enzim olan eNOS'u uyarır ve L arjinin'den NO ile sitrüllin oluşur. Uyarıya ani cevap olması NO sentezini katalizleyen enzimin yapısal bir enzim olduğunu ve uyarıya yanıt için yeni bir protein sentezini gerektirmediğini gösterir. eNOS, kofaktör olarak NADPH ve Ca^{2+} /kalmodüline ihtiyaç duyar ve L-NMA (N-metil-L-arjinin) ve N-nitro-L-arjinin gibi arjinin analogları tarafından kompetitif olarak inhibe edilir. Endotel hücre tarafından sentezlenen NO, diffüzyonla düz kas hücrelerine geçerek guanilat siklazı aktive edip cGMP seviyesini artırır ve düz kaslarda gevşemeyi temin eder. Kalsiyum pompalarının sitoplazmik kalsiyum derişimini düşürmesi ile eNOS aktivasyonu sona ereceğinden eNOS tarafından kısa süreli ve düşük derişimde NO sentezi sağlanır. Aynı durumlar nNOS için de geçerlidir. Konstitütif enzimlerin sentezi posttranskripsiyonel seviyede kontrol edilir.

Uyarılabilir tipe özgü olarak: Burada lipopolisakkaritler ve sitokinler gibi ajanların Ca^{2+} 'ya bağımlı olmadan NOS'u indüklemeleri söz konusudur. İlgili hücrede önceden NOS yoktur veya çok azdır. iNOS uyarı veya Nükleer Faktör Kappa B gibi transkripsiyonel faktörlere cevap olarak sentezlenir (17). Bu sentezi temelde tetikleyen Kappa B'ye cevap veren elemanların iNOS promotor gen bölgesini aktive etmesidir. Bu aktivasyon sonucunda enfeksiyon, enflamasyon veya vasküler travma durumlarında diğer iki NOS formunun ürettiğinin 100-1000 katı kadar NO üretimi sağlanır. Bu sistem özellikle makrofajlarda görülür. Bu tip enzim indüklenbilir NOS olarak adlandırılır.

Dolayısıyla iNOS'un ürettiği NO seviyesi fizyolojik seviyeyi aşmaktadır. Hücrel süperoksit anyon (O_2^-) varlığında bu oldukça toksik olan peroksinitrit molekülünün oluşmasına neden olur. Bunun sonucunda da hücrede lipit peroksidasyonu, DNA fragmantasyonu, plazma antioksidanlarının azalması, protein hasarı ve endotelial düz kas gevşemesi gibi yollarla hücrel hasar yaratabilir. Peroksinitrit oluşumu; süperoksit ile süperoksit dismutaz (SOD) üretimi ve NO üretimi/tüketimi arasındaki dengeye bağlıdır. Sonuç olarak düşük konsantrasyondaki NO hücrel fonksiyonları pozitif olarak düzenlerken yüksek konsantrasyon hücre üzerinde toksik etkiler yaratabilir (17).

NOS enzimlerinin aktiviteleri tamamen koenzimlere bağımlı olup koenzim gereksinimleri sitokrom P450 sistemine benzer. Bu enzimler; FAD, FMN, THB (Tetrahidrobiopterin) ve demir-protoporfirin IX yapısındaki hem grubuna ihtiyaç duyarlar. Fonksiyonel olabilmesi için eNOS'un dimerik yapıda olması gerekmektedir. Dimerik hale gelebilmesi için HEM molekülünün bağlanması gerekir. HEM molekülü bağlandığında dimerik hale geçen enzime, THB bağlanır ve dimerik yapı kararlı hale geçer. Bu geçiş aynı zamanda çinko iyonlarının sayısına da bağlıdır. THB bağlanmamış bir dimer O_2^- üretebilirken bir THB bağlanmış eNOS molekülü hem O_2^- hem de NO üretir. Yüksek seviyede THB varlığı ise doymuş bir dimer yaratarak sadece NO sentezleyen bir enzim oluşmasını sağlar (32)

NOS enzimlerinin dokulardaki dağılımı:

Enzimin vücuttaki dağılımı normal ve patolojik durumlarda değişiklik gösterebilir.

nNOS kaynaklı NO: nNOS ilk kez merkezi sinir sisteminde tanımlanmıştır. Ayrıca iskelet kası, periferik nöronlar, pankreasın β -adacıkları, böbreklerdeki makula densa hücrelerinde ve çeşitli epitelyum hücrelerde gösterilmiştir.

a) Merkezi sinir sistemi;

- Santral sinir sisteminde nöromodülatör olarak görev yapar. Bilinen en düşük molekül ağırlıklı organik nörotransmitterdir. Presinaptik uçtan salgılanan glutamatın etkisiyle (glutamat NMDA reseptörlerine bağlanır), postsinaptik uçtaki hücrenin NOS'u aktive edilir. Böylece oluşan NO ile hedeflenen etkisini oluşturur (33,34).
- Koku alma, görme, ağrıyı algılama ve hafıza oluşması gibi işlevlerde rol oynar (33,35,36,37).

b) Periferik sinir sistemi;

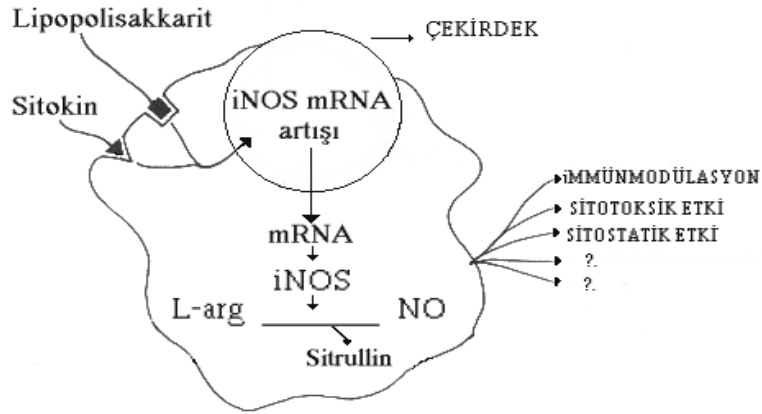
- Nonadrenerjik nonkolinerjik sistemde nörotransmitter olarak rol oynar (35,36).
- Solunum fonksiyonlarında, penil ereksiyon, gastrointestinal sistem motilitesinde, mesane sfinkter işlevinde ve tüm dokuların kan basınçlarının ve akış hızının düzenlenmesinde rol alır (38,39,40,41).

eNOS kaynaklı NO: eNOS esas olarak vasküler epitel hücrelerde bulunur. İmmünokimyasal yöntemle böbrek tübül hücrelerinde de gösterilmiştir. Enzimin hücre içerisinde esas olarak sitoplazmada yer alır. Golgi cisimciği, plazma membranı ve en çok da plazmalemmal kaveolada bulunduğu saptanmıştır. Kaveolada kaveolin kaplayıcı proteinle sarılı olan eNOS inaktif haldedir. Hücre içi serbest kalsiyumun artmasıyla enzim bu proteinden ayrılır aktif hale gelir. Serbest kalsiyum düzeyi düşene kadar aktif halde kalır. Aktive olmuş enzim ortamda L-arjinin, O₂ ve NADPH olduğu müddetçe üretim yapar. eNOS enzimi bazal düzeyde üretilse de hipoksi,

östrojen gibi hormonlar yükseltgenmiş düşük dansiteli lipoproteinler ve mekanik güç gibi faktörler bazal ekspresyonu etkileyebilir (42,43,44,45).

- Düz kasların gevşemesini sağlayarak kan basıncını, kan akış hızını ve dolayısıyla kalp kasılmasını organize eder (46,47).
- Trombositlerin, adezyon ve agregasyonlarını inhibe eder (48,49).
- Endotel hücresi ve vasküler düz kas hücrelerinde antiproliferatif etkiye sahiptir (50)

iNOS kaynaklı NO: iNOS un dokulardaki sentezi uygun sitokinler ve lipopolisakkaritlerle uyarılmasına bağlıdır. Uygun indüksiyonlar yapıldığında makrofajlar, kondrositler, düz kas hücreleri, miyokardiyum, damar epitelyum hücreleri ve diğer hücreler ile dokular tarafından sentezlenebilir. Bu indüksiyon sonucu oluşan iNOS başka bir maddeye gereksinim duymadan kalmodülün molekülünü güçlü bir şekilde bağlar. iNOS enzimi bulunduğu ortamda substrat kısıtlaması olmadıkça veya protein olarak yıkılmadıkça aktiftir. Kalmodülünün enzimi aktif formda tutması nedeniyle iNOS bulunduğu ortamda uzun süreli ve yüksek derişimde NO sentezini katalizler (Şekil 1).



Şekil 1: iNOS'un makrofajlardan üretimi ve NO etkileri

iNOS sentezinin kontrolü: Diğer izoformların aksine iNOS aktivasyonu DNA düzeyinde kontrol edilir. *İndüklenmemiş hücrelerde iNOS aktivitesi ölçülemeyecek kadar azdır.* Lipopolisaccharitler, IL-1, IF-gama, TNF-alfa en önemli indükleyicilerdir. Bazı inhibitör sitokinler ve büyüme faktörleri ise iNOS sentezini baskılar. IL-4, monosit kemotaktik protein-1 gibi. İnsanda iNOS indüksiyonu çeşitli enflamatuvar hastalıklarda artar. iNOS indüksiyonunu sağlayan sitokinlerin hiçbiri yalnız başına maksimum indüksiyonu gerçekleştirmezler. Etkin bir iNOS indüksiyonu için IF-gama, IL-1beta ve TNF-alfa karışımı gerekir. LPS ve sitokinler iNOS mRNA'sının stabilitesini artırarak ya da azaltarak da iNOS sentezini etkileyebilirler.

Fakat daha önce de bahsedildiği üzere nNOS ve eNOS enzimlerine kalmodülin bağlanması için Ca^{2+} gereklidir. Bu da Ca^{2+} 'nın ortamda belli değerde olmasını gerektirir. Bu nedenle bu enzimler kısa süreli ve düşük derişimdeki NO sentezini temin ederler.

Nitrik Oksit Sentaz enziminin inhibitörleri :

İlk kez 1987'de çeşitli arjinin analoglarının aktif makrofajların sitotoksik etkilerini azalttığı gösterilmiştir. Arjininin guanido grubuna kimyasal grupların takılması ile hazırlanan analogları NOS enziminin en geniş inhibitör grubunu oluşturmaktadır. Bu analoglar tek bir izoformdan ziyade tüm NOS izoformlarını inhibe etmektedir. NOS inhibitörleri arasında etkileri en çok çalışılanı N-metil arjinin (L-NMA) dir. Bu bileşik aktive olmuş makrofajların arjinin bağımlı sitotoksik etkilerini argininle kompetisyona girerek inhibe ederler. Diğer önemli inhibitörler Nitroarginin (L-NMA), Nitroarjinin metil ester (L-NAME) vs. dir. Patolojik durumlarda bu inhibitörlerin kullanılmasının amacı NO sentezi sonucu oluşacak toksisiteyi engellemektir. Fizyolojik seviyenin üzerinde NO sentezi üç NOS izoformunda da görülebilir. Mesela serebral iskemide artan Ca^{2+} , nNOS'u aktive ederek beyinde toksik etkiye neden olur. Çeşitli anaflaktik reaksiyonlarda aktive olan eNOS vazoaktif süreçte NO sentezini artırabilir. Daha yaygın olarak artan NO sentezinin nedeni iNOS'tur. Çünkü bu izoform sentezlendikten sonra aktivitesi kontrol edilemez ve lokal olarak NO derişimini çok artırabilir. Bunun sonucu olarak NO damar geçirgenliğini artırır ve septik şokta olduğu gibi şiddetli hipotansiyona neden olur. İzoform-spesifik inhibitörlerin bulunması bu inhibitörlerin klinikte tedavi amacıyla kullanılmasını daha güvenli hale getirir.

GENİTOÜRİNER SİSTEMDE NO'NUN YERİ

Böbrek fonksiyonu üzerine etkisi: Başta renal vazodilatasyon, tübüloglomerüler feedback kontrolü ve natriürezin bulunduğu pek çok etkiye sahiptir. Bogaert ve arkadaşlarının çalışmasında 3. trimesterde koyun fetüsünde, bazal nitrik oksit üretiminin temel böbrek kan akımını sağladığı tespit edilmiştir (51). Yenidoğan domuzlarda endojen nitrik oksit üretimi ayrıca bazal vazokonstriktör güçten de sorumludur ve bu etki erişkine göre daha fazladır (52). Renal endotelial nitrik oksit üretimi, erken gelişim sırasında daha önce tanımlanan artmış vazokonstriktör etkilere bağlı olarak artabilir. Endojen böbrek nitrik oksit aktivitesinin böbrek vasküler direnci ile paralel gittiği tek taraflı üreter obstrüksiyonu olan yetişkin sıçanlarda yapılan çalışmalarda, nitrik oksit için karşıt etki öne sürülmüştür. Lanzone ve arkadaşlarının çalışmasında tek taraflı üreter obstrüksiyonu öncesi bir nitrik oksit inhibitörü olan N-Monometil-L-Arjinin (L-NMMA) uygulamasının renal kan akımındaki ilk yükselmeyi azalttığını gösterdiler (53). L-NMMA infüzyonu kesildiğinde renal kan akımındaki yükselme 10 dakika içerisinde düzelmisti. Bu bulgular üreteral oklüzyon sonrası preglomerüler vasküler direnci düşürmede NO'nun rolü olduğunu kanıtlamaktadır.

Mesane ve üretra fonksiyonu üzerine etkisi: NO, idrar boşaltımı sırasında üretral düz kasların gevşemesini sağlayan ana inhibitör iletilici olarak tanımlanmıştır (54). Aynı zamanda mesane afferent sinir aktivitesinin kontrolünde de görev alır. İntravezikal uygulamanın, sıçanlarda siklofosfamide bağlı mesane irritasyonu ile oluşturulan mesane instabilitesini de baskılayabildiği gösterilmiştir (55). Bu etkinin mesane afferent aktivitesinin baskılanması aracılığıyla olduğu düşünülmektedir. Çalışmalar göstermiştir ki, fosfodiesteraz 1 (PDE 1)'den 5 'e kadar bütün PDE'ler insan detrusor düz kasında bulunmaktadır. PDE 1 seçicili inhibitör vinoxetine, sınırlı hasta grubunda, geleneksel antikolinergik ilaçlara cevap vermeyen mesane instabiliteli hastalarda umut verici sonuçlar vermiştir (56).

Prostat üzerine etkisi: Nitrik oksit düz kas aktivitesinin nonadrenerjik nonkolinerjik bir mediatördür. Burnett ve arkadaşları immünohistokimyasal ve biyokimyasal araştırmalar kullanarak prostatta nitrik oksit sentaz aktivitesini bildirmişlerdir (57). Takeda ve arkadaşları prostatik düz kas tonusunun nitrik oksit vasıtasıyla sağlandığını göstermişlerdir (58).

Penis ve ereksiyon üzerine etkisi: Kavernoöz cisme ve penise giden arterlerin düz kas fibrilleri hücre içi Ca^{2+} 'un azalması ile gevşer. Bu gevşeme hem penise giden kan debisinin artmasını hem de sinüzoidal alanların genişlemesini sağlar. cAMP ve cGMP gibi hücre içi mesajcılar düz kas fibrillerini ve hücre içi Ca^{2+} hareketlerini etkileyen mediatörler, kas fibrilleri arasında son derece hızlı iyon değişimi sağlayabilen gap bileşkeler, erektil dokuyu gerçek bir fonksiyonel sinsityum durumuna getirir. En önemlisi nitrik oksit (NO) olan non-adrenerjik non-kolinerjik (NANC) nöromediatörler kavernoöz sinirlerdeki parasempatik nöronlarda sentezlenir ve düz kas fibrillerini etkilerler. NO, cGMP'nin hücre içi konsantrasyonunu artırır. Proerektil mediatörlerden Asetilkolin (Ach), kalsitonin gen ilişkili protein (CGRP) veya substans P, endotel hücrelerinde NO sentezi ve salınımını artırarak etki gösterir. Karşı etki olarak sempatik sinir sistemi nöromediatörlerinden noradrenalin, nöropeptid Y ve endotel kaynaklı endotelin, kavernoöz düz kas fibrillerinin kasılmasını uyarır ve antierektil etki oluşturur.

Diğer yandan yetersiz oksijenasyon cGMP sentezlenmesini önleyip, TGF- β yoluyla kollajen sentezini artırıp, kavernoöz cisimde fibrozise zemin hazırlar.

Ereksiyonun gerçekleşmesinde lokal süreci başlatan ilk olay kavernoöz sinir uçlarından salınan NO ve Ach'nin salınımıdır. Bunlar hem direkt olarak düz kas dokusuna etki ederken hem de kavernoöz endotel dokuyu uyarır ve diğer lokal mediatörlerin yanında ereksiyonun en önemli mediatörü olan endotelyal nitrik oksitin salınımını sağlarlar. Bundan sonra asıl rolü alan endotelyal nitrik oksit, siklik guanilat monofosfat (cGMP) üzerinden etki yaparak düz kas hücre içi kalsiyumu azaltarak kas gevşemesini ve dolayısıyla ereksiyonun oluşumunu sağlar.

Kadın seksüel fonksiyonuna etkisi: Traish ve arkadaşlarının biyokimyasal çalışmasında klitoral ve vajinal düz kas fonksiyonunu ve sinyal ileti yollarını incelemek için tavşan ve insan vajinal ve klitoral kasları kültürde elde edildi (59). Bu hücreler, hücre içi cAMP sentezini uyaran forskolin ve prostaglandin E1 (PGE₁) gibi vazoaktif ajanlarla yapılan tedaviye yanıt verdiler. Bildirilen verilere göre, klitoral ve vajinal düz kas hücreleri PGE₁ kaynaklı klitoral ve vajinal kas gevşemesinde rol oynayabilecek PGE₁ reseptörleri eksprese ederler. Bu hücreler, eksojen nitrik oksit artmış cGMP senteziyle tepki verirler ve bu göstermektedir ki vajinal ve klitoral hücreler fonksiyonel bir nitrik oksit ,guanilat siklaz ve fosfodiesteraz tip 5 yolağı eksprese ederler. Verilere göre cGMP bu düz kas hücrelerinde düzenlenir ve nitrik oksit/cGMP yolağı, klitoral ve vajinal düz kas tonusunun düzenlenmesinde önemli olabilir.

3.Bölüm

VARİKOSEL

Varikozel ilk kez 1843'te Curling tarafından pleksus pampiniformis içerisindeki testiküler venlerin anormal dilatasyonu olarak tanımlanmıştır (1). Fakat varikozel yüzyıllardır bilinmesine rağmen patofizyolojisi halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Varikozel genel olarak sol tarafta daha yaygın bulunur. Bu oran yaklaşık %80-90 civarındadır. Sağ tarafta tek başına görülme oranı %2 den azdır (60). İnternal spermatic ven içerisindeki kanın retrograd akımı, venöz dilatasyon ve tortiositeden sorumlu olduğu için sağ ve sol spermatic venlerin konfigürasyon farklılıkları ve embriyolojik orijinlerinin bu sol taraflı seçiciliğe katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Sol spermatic ven, sol renal vene dik açı ile girer. Fakat sağ spermatic ven, vena kavaya oblik olarak girer. Aynı zamanda sol renal ven vena kavaya 8-10 cm uzaklıktadır. Dolayısıyla sol spermatic vende 8-10 cm daha fazla basınç vardır ve rölatif olarak daha yavaş kan akımı vardır (61,62).

Peki varikozel gelişmesinin temelinde ne yatmaktadır? Erkek popülasyonda ne sıklıkta görülmektedir? İnfertilite ile ilişkisi nedir? Her varikozelli erkek infertil olur mu? İnfertil olabilmesi için tek taraflı varikozel olması yeterli midir? Tedavi sonrası neden bazı erkekler fayda görürken bazıları fayda göremez?

Günümüzde bu soruların bazılarını varikozelin patofizyolojisinin net bilinmemesinden dolayı sınırlı cevaplar verilmektedir. Oster 1971'de 1072 okul çocuğunu taramış ve 10 yaş altında %0, 10-19 yaş arasında %16,2 olarak varikozel bulmuştur (62). Akbaş ve arkadaşlarının 2000 yılında yayınladıkları 2-19 yaş arası 4052 çocukta yapılan kapsamlı prevalans çalışmasında; 2-6 yaş arası çocuklarda

%0,79, 7-10 yaş arasında %0,96, 11-14 yaş arasında %7,8, 15-19 yaş arasında %14,1 oranında varikozel saptanmıştır (63).

Varikozel erişkin erkek popülasyonunda %15-22 oranında görülür (64,65). İnfertilite şikayeti nedeniyle başvuranların %30-40'ında varikozel saptanmaktadır (2,3). Anormal semen analizi olan infertil erkeklerde ise %25 oranında varikozelin bulunduğu bildirilmiştir (66). Sekonder infertilite nedeniyle başvuran kişilerde varikozel sıklığı artarak %69-81'e kadar çıkmaktadır (4,5,6). Bununla birlikte varikozele sahip olguların %80'inde infertilite görülmez (9). Varikozelin kalıtımla olan ilişkisini araştıran bir çalışmada varikozeli olan erkeklerin birinci derece akrabalarında hastalığın görülme sıklığı %53 gibi genel popülasyondan önemli derecede yüksek oranda saptanmıştır (67). Fakat varikozelin görülme sıklığı açısından ırklar arasında farklılık gözlenmemiştir (68).

Varikozel Etiyolojisi

Etiyolojiye yönelik çeşitli teoriler mevcuttur. Hatta varikozelin etiyolojisinde embriyolojik bazı faktörlerin rol oynadığı öne sürülmüş ve embriyogenez sırasında sol spermatik venin daha hiperplastik olması varikozel gelişimine neden olabileceği belirtilmiştir (69). Yine de etiyolojide bir çok faktörün birlikteliği daha olasıdır. Bunlar anatomik farklılıklar, doğumsal ve/veya edinsel kapakçık disfonksiyonuna sekonder venöz reflü ve venöz obstrüksiyonlardır. Kabul görmüş 3 teori mevcuttur (70).

- 1) **Her iki testiküler venler arasındaki anatomik farklılıklar:** Bilindiği üzere sol spermatik ven sol renal vene dik açıyla açılırken sağ spermatik ven vena kavaya oblik açılır. Bu da solda hidrostatik basınç artışı ve dolayısıyla sol pleksus panpiniformis venlerinde dilatasyon ve tortuoziteye neden olur.
- 2) **Yeterli venöz kapakçıkların olmaması veya disfonksiyonu:** Sol renal ven ve sol spermatik vende kapakçık bulunmadığını veya yetersiz bulunduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (71,72,73). Fakat yeterli valf sistemine sahip hastalarda da %26,2 oranında varikozel görülebilmektedir. Bazı otörler valflerin yokluğunun varikozele zemin oluşturduğunu fakat varikozelin nedeni olmadığını belirtmektedir (67,74).
- 3) **Nutcracker Fenomeni:** Çeşitli damarsal yapıların spermatik venlere yaptığı bası sonucu spermatik vende basınç artışı ile varikozel oluşumuna neden olmasıdır. 2 tipi bulunmaktadır. Proksimal (klasik) tipte renal ven aorta ile süperior mezenterik arter arasında basıya maruz kalır. Cloosaed ve arkadaşlarının 1980’de tanımladığı distal tipte ise sol arteria iliaka kominis sol vena iliaka kominise basısı sonucu eksternal spermatik vende basınç artışı olur (67).

Varikozektomi uygularken eksternal spermatik veni göz ardı etmememiz gerekmektedir. Yapılan bir çalışmada 4 mm üzerinde çapı olan eksternal spermatik ven oranı %16-74 gibi geniş bir aralıkta seyretmektedir (75,76). Bu nedenle cerrahi tedavi sırasında eksternal spermatik venin atlanması nüks ile sonuçlanabilir.

Sağ tarafta görülen varikozelin temelinde ise situs invertus haricinde, ki bunda embriyolojik faktörlerin rol aldığı belirtilir, vena kavaya ve sağ spermatik vene dıştan bası veya obstrüksiyona neden olan patolojiler yatmaktadır (77). Aynı zamanda internal spermatik venin vena kava yerine sağ renal vene açılması sonucu sağ varikozel oluştuğunu gösteren venografik çalışmalar da mevcuttur (78,79).

Varikosel Patofizyolojisi

Varikoselin meydana getirdiği patofizyolojik değişiklikler günümüzde halen net olarak ortaya konulmuş değildir. Birçok hipotez mevcuttur:

- 1) **Renal Adrenal Reflü:** Varikoselli hastaların hepsinde spermatik vende retrograd akım yoktur. Ahlberg ve arkadaşlarının çalışmasında sol varikoselli hastaların %50'sinde reflü tespit edilmişti (80). Retrograd akıma bağlı olarak böbrekten ve adrenal bezden katekolaminler, prostaglandin E ve F gibi metabolitlerin testise reflüsü testiküler fonksiyonu bozabilmektedir. Fakat bunun tersine başka bir çalışmada kortizol, DHEA gibi diğer metabolitlerin spermatik vendeki konsantrasyonu ile periferik vendeki konsantrasyonu farklı bulunmamıştır (81).
- 2) **Hormonal Bozukluklar:** İnfertil varikoselli hastaların serum testosteron seviyelerindeki düşüş varikoselde leydig hücre disfonksiyonu olabileceğini akla getirmektedir. Fakat varikoselli ratlarda yapılan çalışmada serum total testosteron seviyesinin normal fakat intratestiküler testosteronda azalma olduğu saptanmıştır (82). Dünya sağlık örgütünün bir çalışmasında varikoseli olan 30 yaş üstü erkeklerde 30 yaş altındakilere oranla serum total testosteronda anlamlı düşüş saptanmıştır ki bu da bize varikoselin testis leydig hücrelerine zamanla olumsuz yönde etkisi olduğunu göstermektedir (83). Yapılan bazı çalışmalarda serbest testosteron düzeyinin azaldığı, buna karşın östradiol ve steroid bağlayıcı globülin düzeylerinin yüksek olduğu bazı çalışmalarda ise FSH, LH, testosteron ve östradiolün normal olduğu saptanmıştır (84,85). Varikoselli hastalarda bu hormon profillerindeki değişikliklerin endokrinolojik bir patolojiye mi bağlı olduğu yoksa spermatogenezin bozulmasıyla mı ilişkili olduğu belirsizdir. Bazı çalışmalar

varikosektomi sonrası testosteron seviyesinin değişmediğini bazı çalışmalar ise serum testosteron seviyesinin arttığını iddia etmektedir (86,87). Varikoseli olan hastalarda 4 saatlik GnRH infüzyonuna LH ve FSH cevabının arttığı gösterilmiştir (88). Varikosektomi sonrasında GnRH uyarımına LH yanıtının düzelmesi postoperatif fertilitte ve yüksek gebelik oranlarıyla ilişkili gösterilmiştir (89). Leydig hücrelerinin histolojik görünümünün değerlendirildiği varikoselli olguların testis biyopsilerinde, leydig hücre yapılarının etkilendiği ve bu hastaların varikosektomiden yarar görmediği bildirilmiştir (90).

- 3) **Venöz Basınc Değişiklikleri:** Bu durum varikosel patofizyolojisinin yıllardır tartışılan mekanizmalarından biridir. Venöz akımın kollaterallerinin ligasyonu ve pampiniform pleksus distalindeki ana venöz akımın kısmi oklüzionuna bağlı olarak venöz basınçta %90'ın üzerindeki artış postkapiller venüllere iletilmektedir. Kronik prekapiller vazokonstriksiyon testisin beslenmesine olumsuz etkide bulunabilir ve spermatogenezi bozabilir. Yapılan çalışmalarda varikosel oluşturulmuş ratlarda kontrol grubuna göre adenin nükleotid konsantrasyonunun azalması ve NAD-sitokrom-c redüktaz aktivitesinin düşmesi gibi bu varsayımları güçlendiren bulgular saptanmıştır (91,92).

Dolayısıyla varikosel oluşturulmuş testiste, enerji metabolizması ve mitokondriyal oksidatif fosforilasyonda bozukluk olduğu söylenebilir. İnsanlarda, skrotumun anterolateral yüzünden pampiniform pleksusa manometre yerleştirilmiş iğne ile girilerek spermatik kord venindeki normal istirahat venöz basınçları ölçülmüş ve sonuçta varikoseli olanlarda olmayan kişilere göre pampiniform pleksus venöz basıncı istirahatte ortalama 19,7 mm-Hg, valsalva ile ortalama 22 mm-Hg daha yüksek bulunmuştur. Fakat bu çalışmada 32 varikoselli hastanın 18'inde semen parametreleri normal

bulunmuştur. Aynı araştırmacılar 60 varikoselli hastaların cerrahi işlemden sonra %88'inde venöz basınç değerlerinde azalma saptamışlardır (93,94). Bu seride, 42 hastanın %70'inde hem venöz basınçta azalma hem de semen parametrelerinde iyileşme gözlenirken, bu grup için gebelik oranı %32 düzeyinde gerçekleşmiştir. Ayrıca venöz basınçta varikozel onarımı ile azalma sağlanan olgularda, sağlanamayanlara göre sperm motilitesinde düzelme daha fazla bulunmuştur.

4) **Sıcaklık değişikliği:** Testiküler fonksiyon bozukluğu nedenleri içerisinde en yaygın mekanizmadır. Skrotal sıcaklık regülasyon mekanizmaları iki şekilde düzenlenmektedir:

a) *Skrotumun kendisi:* Skrotumda subkütan yağ dokusu bulunmaz. Burada dartos kası devreye girer ve skrotum yüzey alanı değişir.

b) *Karşılıklı (Counter current) sıcaklık sistemi:* İlk olarak 1959'da tanımlanmıştır (95). Bu sisteme göre spermatik kord içerisinde bulunan pleksus pampiniformis, arteryel ve venöz kan arasında 'countercurrent' ısı değişimini sağlar. Yani testise giren spermatik arter pleksus pampiniformisi oluşturan venöz sistem tarafından soğutulur.

Bu konuya yönelik birçok çalışma mevcuttur. Yüzeyel prob kullanılarak yapılan bir çalışmada anestezi altındayken varikoseli olan infertil erkeklerde skrotumun sıcaklığı değerlendirilmiş, varikosellilerde kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (96). Adolesan, 2.-3. derece varikoselli hastalarda yatar ve ayaktaki pozisyonların ikisinde de skrotal sıcaklık değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (95). Benzer çalışmalar hayvanlar üzerinde de yapılmış ve aynı sonuçlara ulaşılmıştır (96). İntratestiküler sıcaklık artımının hangi mekanizmalar sonucu spermatogenezini bozduğu net olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda

seminifer túbül ve /veya leydig hücre düzeyinde nükleer DNA ve RNA bağlayıcı proteinlerde doğrudan termal hasar sonucu olduğu düşünölmektedir (97,98). Fakat bu etkinin kısa dönemde sertoli ve leydig hücre fonksiyonunu bozmadığı düşünölmektedir (99). Başka bir çalışmada da varikoseli olmayan kontrol grubuna göre tek taraflı varikoselli infertil hastalarda her iki testislerinde DNA polimerazların aktivitesinde %50 azalma olduğu gözlenmiştir (97).

- 5) **Otoimmün değişimler:** Sertoli hücrelerinin meydana getirdiği kan-testis bariyerinin yıkılması sonucu antisperm antikorları (ASA) oluşur. Çalışmalarda varikoselli hastalarda kan-testis bariyeri bozulmadığı halde kontrol grubuna göre daha yüksek ASA oluşumu saptanmıştır (100,101). Fakat mekanizması bilinmemektedir.
- 6) **Oksidatif stres değişiklikleri:** İnsan spermatozoası aerobik koşullarda ekim yapıldığında ROS yani süperoksit anyonlar, hidroksil radikalleri, nitröz oksit, hidrojen peroksit...vb. gibi biyokimyasal moleküller geliştirme kapasitesine sahiptir (102). Fizyolojik koşullarda ROS; sinyal ileti mekanizmaları, sperm hiperaktivasyonu ve kapasitasyonu, akrozom reaksiyonunu kolaylaştırma ve sperm-oosit birleşmesi için önemli rol oynarken patolojik koşullarda üretildiğinde oksidatif strese neden olarak sperm fonksiyonu, motilitesi ve morfolojisinde bozulmaya, daha ileri düzeylerde ise sperm DNA hasarlanmasına neden olabilir (103,104).

Varikoseli olan fertil ve infertil hastaların semen örneklerinin değerlendirilmesini içeren bir çalışmada varikoselli infertillerde %80 oranında ROS artışı saptanırken bu oran fertillerde %77 olarak saptandı. Varikoseli olmayanlarda ise %20 seviyelerinde kalmıştır (105). Oksidatif strese artmış duyarlılık, spermin plazma membranındaki yağ asitlerinin bileşimindeki farklılıktan kaynaklanabilir. Normospermik varikoselli hastalarla karşılaştırıldığında, oligospermik varikoselli hastalarda plazma

membranındaki doymamış çoklu yağ asit içeriğinde belirgin azalma olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (106). Bu durum varikozel patofizyolojisi için potansiyel mekanizmada ROS'un katkısını desteklemektedir.

7) **Testiküler kan akım değişiklikleri:** Turner ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tek taraflı varikozel varlığında iki taraflı testiküler kan akımı artışı saptanmış olup bunu destekleyen ve varikozelektomi sonrası kan akımlarının normale döndüğünü tespit eden çalışmalar mevcuttur (107,108). Fakat halen tek taraflı varikozelde neden her iki testisin kan akımının etkilendiği netlik kazanmamıştır. Nöral veya hormonal faktörlerin bu konuda rol oynadığı ileri sürülmektedir. Bunun aksine varikozelde testiküler kan akımında azalma olduğunu belirten çalışmalar da mevcuttur. Li ve arkadaşlarının, sol renal venin kısmen bağlandığı deneysel çalışmasında varikozel olan testiste kan akımının azaldığı gözlenmiştir (109).

8) **Apoptozis:** Programlanmış fizyolojik hücre ölümü olarak bilinen apoptozis terim olarak ilk kez 1972 yılında Kerr ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (110). Germ hücrelerinin gelişiminde, bozuk olan hücrelerin imhasında ve normal sperm üretiminde rol oynar. Ratlarda yapılan bir çalışmada spermatogenez esnasında oluşan proleptoten fazındaki spermatositlerin %75'inin apoptozise uğrayabileceği gösterilmiştir (111). Yapılan insan çalışmalarında hipospermatogenez ve spermatid seviyesindeki maturasyon duraklaması olan erkeklerde artmış apoptotik aktivite gösterilmekte fakat "Sertoli Cell Only Sendromu" olan hastalarda bu gözlenmemektedir (112). Normal hücrelerde bulunmayan endotelial nitrik oksit sentazın (eNOS) apoptotik germ hücrelerinde bulunduğunu bildiren yayınlar vardır. Bu, varikozeldeki germ hücre apoptozisinde eNOS ve nitrik oksitin de rol oynayabileceğini düşündürmektedir (113).

TUNNEL assay yöntemi kullanılarak son zamanlarda apoptozisi değerlendiren bir çalışmada ratlarda seminifer tübül başına apoptotik hücre 0,27 iken kontrol grubunda bu oran 0,14 hücre olarak bulunmuştur (114).

Varikoselde apoptozis gelişmesi 3 nedene bağlanmaktadır.

- Sıcaklık artışı
- Androjen yoksunluğu
- Toksik metabolitler

Lue ve arkadaşlarının çalışmasında varikoselin neden olduğu sıcaklık artışının hücreye ve maturasyon evresine özgül olarak apoptozise neden olduğu öne sürülmektedir (115). Isı şok proteinleri sperm hücreleri üzerinde dağılım göstermekte ve ısı ile paralel bir artış olsa da varikoselde ısı şok proteinlerinin rolü net değildir.

Yapılan bir çalışmada ratlara hipofizektomi uygulanmış ve 4 gün sonra olgunlaşmamış ratlarda apoptozis indüklenirken olgun ratlarda GnRH antagonistleri verilmesi sonrası apoptozisin indüklendiği gözlenmiş; verilen tedavi sonrası 5. günde proleptoten ve pakiten spermatositler ile evre 7-8 spermatidlerde apoptozis saptanmıştır (116).

Birçok toksik madde apoptozise neden olmaktadır. Sigara içen varikoselli erkeklerde 10 kat daha fazla oligospermi tespit edilmiştir (117). Aynı zamanda kadmiyum, metoksi etanol, etilen glikol eter ve metoksiasetikasit gibi maddelerde yapılan hayvan çalışmalarında apoptozise neden olduğu saptanmıştır (118).

VARİKOSSEL TANISI

Fizik muayene: Varikozel muayenesinde fizik muayene son derece önemlidir. Bu nedenle çok dikkatli yapılmalıdır. İyi aydınlatılmış bir odada birkaç dakika ayakta durduktan sonra hastanın muayenesi yapılmalıdır. Öncelikle inspeksiyonda, asimetrik görünüm, spermatik kord damarlarında belirginleşme ve tortüöz görünüm varlığı değerlendirilmelidir. Sonrasında testis ve spermatik kord el ile kontrol edilir. El ile muayenede varikozel saptanmadığında hastaya karın içi basıncı artırıcı valsalva manevrası yaptırılır ve tekrar muayene yapılır. Bu esnada kremasterik kasların kasılması sonucu kord kalınlaşabilir ve venlerin retrograd dolumu ve genişlemesi ile karıştırılabilir. Bunu önlemek için muayene esnasında diğer el ile kremasterik kasların kasılmasını önlemek için testisler tutulmalıdır.

Sonrasında hasta yatırılarak muayeneye devam edilir. Yatırıldığında venlerde küçülme olacağından spermatik kordonda incelme saptanabilir. Bu durum varikozel lehine yorumlanır. Hasta ayaktayken saptanan kordon kalınlaşması yatar durumda da saptanıyorsa kordon lipomundan, trombüs veya vena kavadaki tümör gibi bir obstrüksiyondan şüphelenilebilir.

Hasta yatar pozisyonda spermatik korda işaret ve baş parmakla yapılan bası sonrası ayağa kaldırıldığında ve bu bası ortadan kaldırıldığında venlerde retrograd dolum hissediliyorsa bu da varikozel lehinedir.

Fakat gözle tespit edilen varikozel haricinde muayenede çok farklı sonuçlar elde edilebilir. İki uzman hekim arasında bile farklı sonuçlar elde edilebilir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) çok merkezli çalışmasında anormal semen parametrelili 141 infertil erkekte venografi ile sol tarafta %70 oranında varikozel saptanırken fizik muayene ile olguların %30-40'ında varikozel saptanmış ve fizik muayenenin %23 yanlış pozitif orana sahip olduğu tespit edilmiştir (119). Fizik muayene, renkli

doppler USG ve termografiyi karşılaştıran Trum ve arkadaşları fizik muayenenin varikozel tanısında özgülüğünün %69, duyarlılığının ise %71 olduğunu bildirmişlerdir (120).

Sonuçta yapılan tüm bu değerlendirmelerde hastada varikozel tespit edilmişse bunu derecelendirmek gerekir. Bunun için 1970 yılında Dubin ve Amelar tarafından tanımlanan ve halen günümüzde kullanılan derecelendirme sistemi kullanılır.

Buna göre;

Derece 1: Varikozel, sadece valsalva manevrası ile ele gelmektedir.

Derece 2: Varikozel, dinlenme esnasında ve normal solunumda ele gelmektedir.

Derece 3: Varikozel, dinlenme esnasında ve normal solunumda görülebilmektedir.

Varikozel muayenesi yaparken mutlaka testis muayenesi de yapmak gerekir. Varikozelli hastaların önemli kısmında testis hacminde azalma mevcuttur. Yüksek dereceli varikozel vakalarında, testis boyutunda küçülme ve motil sperm sayısında düşüklük görülebilir (121). Testis hacmini orkidometri veya ultrasonografi ile ölçebiliriz. Her bir testis hacmi erişkinlerde 20 ml'den az ve iki testisin uzun eksenleri arasındaki fark 0,5 cm'den fazla olmamalıdır.

Güncel pratikte fizik muayene çoğunlukla varikozelin tanısı için yeterli olmakla birlikte zaman zaman görüntüleme yöntemlerine ihtiyaç duyulur. Şişman hasta, kısa kordon, testiküler aşırı hassasiyet durumları gibi fizik muayenede kısıtlama varsa ve son dönemlerde hekimlerin daha dikkatli ve tedbirli olmasını gerektiren yasal durumlar için ek görüntüleme yöntemleri uygulanabilir. Bunlar;

Skrotal Ultrasonografi: Skrotal gri skala gerçek zamanlı ultrasonografi ile testis, epididim ve spermatik kordonun incelenmesi, infertilite araştırılması için bize değerli bilgiler verir. 7,5-10 mHz lineer prob kullanılması önerilmektedir. Pampiniform pleksusundaki genişlemiş venlerin dinlenme anında ve valsalva manevrası sırasında yapılan ölçümleri ile varikozel teşhisi konulabilir. Ultrasonografide çap ölçülürken damarların oblik kesitlerinin alınması, damarların dallanma yerlerinden kesit yapılması veya yan yana duran birden fazla damarın tek bir damar gibi görülmesi ven çapını ölçerken yanlış sonuçlara ulaşılmasına neden olur. Varikozel için net belirlenmiş dilate ven çapı eşik değeri yoktur. Eskew ve arkadaşlarının çalışmasında, venografi kullanılarak subklinik varikozel tanısı için ven çapının en az 2,7 mm ve klinik varikozel tanısı için ise 3,6 mm olduğunda sonuçların duyarlılığı ve özgüllüğünün en yüksek oranda olduğu bildirilmiştir (122). Kondah ve arkadaşları ise varikozel tanısı için dinlenme anındaki ven çapının valsalva manevrasında 1 mm artması halinde subklinik varikozel tanısı konulabileceğini belirtmiştir (123).

Skrotal Renkli Doppler Ultrasonografi: Skrotal renkli doppler ultrasonografi (SRDU) ile damardaki kan akımı, akım yönü ve miktarı belirlenebilir. Damar içindeki eritrositlerin hareketleri, prob tarafından saptanarak analiz edilir. Proba doğru olan eritrosit akımı kırmızı, probtan uzaklaşan eritrosit akımı mavi renkte görülür. SRDU'da görülen damar renginin maviden kırmızıya veya kırmızıdan maviye dönmesi, kan akımının ters döndüğünü gösterir. Bu renk değişikliği ile varikozel tanısı konmaktadır. Varikozel tanısında altın standart olarak kabul edilmiş venografide, internal spermatik vende valsalva manevrası sırasında reflü olması varikozel tanısı için yeterli bulunmuştur (124). SRDU ile yapılan bir çalışmada sağlıklı erkeklerin %42'sinde valsalva esnasında reflü saptanmıştır. Sadece normal inspiryum ve derin inspiryum sırasında reflü olması anormal kabul edilmelidir.

VARİKOSELDE TEDAVİ ENDİKASYONLARI

Varikoselde tedavinin amacı; testiküler fonksiyonu ve seminal parametreleri düzeltmek, gebelik oranlarını artırmaktır. Anormal semen parametrelerine sahip infertil erkeklerin %25'inde varikozel saptanmıştır (126). Operasyon öncesi infertiliteyi açıklayıcı başka bir hastalığın olmadığı ve eşin normal fertilité potansiyeline sahip olduğu ortaya konmalıdır. Çocuk sahibi olmak isteyen çiftlerde varikozelin tedavi gerekliliğine karar vermek için aşağıdaki şartların bulunması gereklidir.

- 1) Skrotal muayenede ele gelen varikozel olması
- 2) Çiftlerin infertil olduğunun bilinmesi
- 3) Eşin normal olması veya tedavi edilebilir fertilité potansiyeline sahip olması.
- 4) Erkeğin anormal semen parametreleri veya anormal sperm fonksiyon testlerine sahip olması.

Klinik varikozelli infertil erkeklerde anormal semen analizi ve fertilité bakımından normal bir eş varlığı varikozektominin en sık endikasyonudur. Varikozelin infertil/subfertil erkeklerdeki potansiyel yararı bilinmekle birlikte belli hasta gruplarında tedavinin sonuçları daha yüz güldürücüdür. Yapılan çalışmalarda aşağıdaki özelliklere sahip hasta grubunun varikozektomiden daha fazla yarar gördüğü gözlenmiştir (127):

- 1) Grade 3 varikozel varlığı
- 2) Testiküler atrofinin bulunmaması
- 3) Normal FSH seviyesi
- 4) Pozitif GnRH stimülasyon testi
- 5) Total motil sperm sayısının 5 milyonun üzerinde olması
- 6) Motilitenin %60'ın üzerinde olması

Varikosel fertilitte durumundan bağımsız olarak spermatogenezi etkiler. Sperm sayısı ve motilitesi düşer, anormal morfoloji görülür. Azospermi veya ağır oligospermisi olan varikoselli erkeklerde eşlerin değerlendirilmesini takiben cerrahi tedavi savunulmaktadır (128). Azospermili olgularda varikosel tedavisinin rolünü araştıran çalışmalarda semende postoperatif %21-55 motil sperm ve %25'e varan spontan gebelik saptanmıştır (129).

Bu çalışmalarda azospermik olgularda varikoselektomiden önce testis biyopsisi yapılması önerilmektedir. Çünkü testis biyopsisinde 'sertoli cell-only' paterni veya spermatozoid düzeyinde matürasyon duraklaması olan olgular cerrahiden fayda görmemektedir. Total motil sperm sayısı 1 milyonun altında olan veya pellet (+) azospermi saptanan ağır oligoastenospermik olgulardaki çalışmalar tedavi sonrasında semen parametrelerinde %69-86 oranında düzelme olduğunu göstermiştir (129). Total motil sperm sayısı 10 milyondan düşük ve FSH'ı yüksek olan olgularda prognoz kötüdür.

Y Kromozomu mikrodelsyonları infertil erkeklerde %0,3-7 oranında görülür. Karyotip bozukluğu veya Y kromozom mikrodelsyonları gibi genetik bozukluklara sahip varikoselli infertil olgularda varikoselektomi sonrası semen parametrelerinde düzelme ve gebelik oranlarında iyileşme gösterilememiştir (130).

Varikoselin fertilitte üzerindeki rolü sekonder infertilitesi olan erkeklerde çok güçlü olarak vurgulanmıştır. Sekonder infertil erkeklerde %69-81 oranında varikosel saptanmıştır (128).

VARIKOSEL TEDAVİSİ

Varikösel tedavisinde iki yaklaşım bulunmaktadır. Bunlar cerrahi ve perkütan embolizasyondur. Cerrahi yaklaşım retroperitoneal, inguinal, subinguinal, skrotal veya laparoskopik yöntemle yapılabilir. Perkütan embolizasyonda özel bir ajan ile internal spermatic venler perkütan yolla embolize edilir.

Inguinal ve Subinguinal Ligasyon: İnguinal insizyon, deri çizgileri izlenerek küçük bir insizyonla inguinal kanala girilerek uygulanır. İnguinal kanal, iç halkanın hemen altındaki korda ulaşmak amacı ile dış inguinal halka ve fasya yaprakları izlenerek açılır. Kord ilioinguinal sinir korunup dışarıda tutulduktan sonra penröz dren ile izole edilir. Optik büyütme yardımı ile testiküler arter lokalize edilmelidir. Geçmişte inguinal girişim öyküsü varlığında inguinal girişimden kaçınılmalıdır.

Subinguinal yaklaşım inguinal halka altında pubik çıkıntı seviyesinde cilt kıvrımlarına paralel insizyonla girilip, inguinal yaklaşımda olduğu gibi testis izole edilerek ve doğurtularak uygulanır. Bu seviyede çok sayıda ven saptamak mümkün olduğundan testiküler arteri saptamak güç olabilir. Goldstein ve arkadaşları testisin doğurtulmasının kalıcı ve tekrarlayan varikösel oluşumuna sebep olan eksternal spermatic ven ve gubernaküler venlere ulaşarak bunların ligasyonuna olanak sağladığını rapor etmişlerdir (131).

Perkütan Transvenöz Oklüzyon: Bu yöntem transfemoral yoldan spermatic vene venografi ve embolizasyon için ulaşarak çıkarılabilir balonlar kullanılarak venöz oklüzyonun sağlanması esasına dayanır.

Varikoselektominin en önemli komplikasyonları; hidrosel oluşumu, varikosel nüksü ve testiküler atrofi olarak sıralanır. Hidrosel oluşumu spermatik kord ve bağlı damarlarla spermatik lenfatiklerin korunmamasına bağlı oluşur. Açık inguinal ve subinguinal yaklaşımlarda hidrosel gelişim oranı %3-9 iken bu oran mikroskopik yaklaşımda %1'lerin altına inmektedir. Perkütan embolizasyonda ise hidrosel gelişimi saptanmaz. Yine açık inguinal ve subinguinal yaklaşımda varikoselin tekrarlama oranı %15 civarında iken bu oran mikroskopik yaklaşımda %1-3'e inmektedir. Perkütan embolizasyonda ise bu oran %10-25 gibi yüksek seviyede seyreder.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma grubu:

Bu çalışma Mayıs 2008 ile Ağustos 2009 tarihleri arasında S.B. İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Polikliniği'ne primer veya sekonder infertilite nedeniyle başvuran ve semen analizi parametrelerinin en az birinde WHO kriterlerine göre anormallik olan (spematozoa sayısı 20 milyon./cc'nin altı, 1 saat sonra %50'den az hareketli spermatozoa olması, normal morfolojiye sahip sperm oranının %50'nin altında olması) ve fizik muayene ile varikozel tanısı alan 60 infertil erkek hasta üzerinde yapıldı. Hastalarda en az 1 yıldır korunmasız, düzenli cinsel ilişkiye rağmen çocuk sahibi olamama şartı arandı.

Çalışma grubuna katılan bütün hastaların fizik muayeneleri aynı hekim tarafından yapıldı. Varikozel, şiddetine göre derecelendi:

Grade 1 varikozel: Sadece valsalva manevrası ile ele gelen

Grade 2 varikozel: Valsalva manevrası olmadan da ele gelen

Grade 3 varikozel: El ile muayeneye gerek olmadan inspeksiyonda tespit edilebilen

Hastalara rutin genel kan tetkikleri (hemogram, biyokimya) ve hormon değerlendirilmesi (FSH, LH, T.testosteron, Prolaktin ve Estradiol) yapıldı. İnfertilite ile başvurup fizik muayenede varikozel tespit edilen hastalara yasal prosedürler çerçevesinde aynı hekim tarafından aynı merkezde skrotal renkli doppler USG yapıldı. Her hasta minimum yirmi gün aralıklarla en az iki kez aynı merkezde semen örneği verdi. Operasyon öncesi tüm hastalara yapılacak çalışma anlatıldı ve ayrıntılı onam formları imzalatıldı.

Teknik Metot

Doku ve Kan Örneklerinin alınması:

Operasyon öncesi ikişer adet kuru biyokimya tüpü ve içerisinde formol olan şişeler hastaların isimleri ve alınacak yerler işaretlenmiş olacak şekilde hazırlandı. Tüm hastalara L3-4 vertebralar arasından 25 G spinal iğne ile girilip 3 cc bupivacaine % 5 dekstroz çözeltisi (marcaine heavy ®) ile spinal anestezi yapıldı. Spinal anestezi 5 dakika sonra pin-prick testi ile spinal anestezinin seviyesi kontrol edildikten ve cerrahi alan anestezi alanına girdikten sonra operasyona geçildi. Tüm hastalara aynı hekim tarafından, mikroskopik inguinal yöntemle varikosektomi uygulandı. Aynı insizyon ile ulaşılabilen inferior epigastrik venin yüzeysel dalı ortaya konularak buradan kontrol grubu olarak 10 cc kan alındıktan sonra yaklaşık 1 cm'lik damar örneği immünohistokimyasal çalışma için alındı. Sonrasında spermatik kanala ulaşıldı spermatik fasyalar minimum manüplasyonla açılarak genişlemiş spermatik venlere ulaşıldı ve ligasyon öncesi 10 cc kan alındı, sonrasında yaklaşık 1 cm'lik damar duvarı alındı. Biyokimya tüpüne alınan kanlar laboratuvara gönderildi. Burada tüpler 3000 devir/dk'da 10 dk santrifüje edilerek serum örneğine ulaşıldı . Serumlar daha sonra çalışılmak üzere -80 °C'de donduruldu. Alınan damar örnekleri formolde patoloji laboratuvarına gönderildi.

Serum NO seviyesi tespiti:

NİTRİT/NİTRAT KOLORİMETRİK METOT İLE TAYİNİ

Prensip: 1- Nitrat + NADPH + H⁺ →^{NR} Nitrit + NADP⁺ + H₂O
(NR:Nitrat Redüktaz)

2- Nitrit + Sulfanilamid + N-(1-naftil)etilendiamindiklorid → **Renkli ürün**

Reaktifler:

Reaktif 1: Potasyum fosfat buffer

Reaktif 2 : NADPH tablet

Reaktif 3 : Nitrat redüktaz

Reaktif 4 : Sulfanilamid (Color reagent 1)

Reaktif 5 : N-(1-naftil)etilendiamindiklorid (Color reagent 2)

Reaktif 1 kullanıma hazır olarak alındı.

Reaktif 2 den 1 tablet alınarak 3 ml Reaktif 1 ile çözüldü.

Reaktif 3, 0.7 ml distile su ile çözüldü.(2 hafta 2-8°C de stabildir.)

Reaktif 4 ve 5 kullanıma hazırıldı. (3 ay 2-8°C de stabildir.)

Ayrıca Sodyum Nitrit ve Potasyum Nitrat standart çözeltileri hazırlandı.

Sodyum Nitrit Standart Solüsyonu : 75 mg 100 ml distile su ile hazırlandı. (500 mg nitrit / L)

Potasyum Nitrat Standart Solüsyonu : 81.5 mg 100 ml distile su ile hazırlandı. (500 mg nitrat / L)

Hazırlanan stok standart solüsyonlarından

0.5 mg/L

1.0 mg/L

2.5 mg/L

5.0 mg/L konsantrasyonlarında standart solüsyonları hazırlandı.

Ölçüm Metodu : Nitrit için Sodyum nitrit standart solüsyonları kullanılarak aşağıdaki çalışma yapıldı.

	Blank Nitrit	Standart Nitrit	Hasta örnekleri
Distile su	0.770ml	0.270 ml	0.270 ml
Standart		0.500 ml	
Hasta örneği			0.500 ml
30 dakika oda ısısında bekletildi. 540 nm de blank tüpüne karşı absorbands alındı. (A1)			
Color reagent 1	0.250 ml	0.250 ml	0.250 ml
Color reagent 2	0.250 ml	0.250 ml	0.250 ml
Karıştırıldı ve 15 dakika oda ısısında ,karanlıkta bekletildi.540 nm de blank tüpüne karşı absorbands alındı. (A2)			
A2-A1 değerleri ile oluşturulan standart eğrisinden örnekler sonuçlandırıldı.			

Nitrat için Potasyum nitrat standart solüsyonları kullanılarak aşağıdaki çalışma yapıldı. Kullanılan Reaktif 2 ve 3, nitratı nitrite redükte eder.

	Blank Nitrit+Nitrat	Standart Nitrit+Nitrat	Hasta örnekleri
Distile su	0.770ml	0.270 ml	0.270 ml
Standart		0.500 ml	
Hasta örneği			0.500 ml
Reaktif 2	0.250 ml	0.250 ml	0.250 ml
Reaktif 3	0.020 ml	0.020ml	0.020ml
30 dakika oda ısısında bekletildi. 540 nm de blank tüpüne karşı absorbands alındı. (A1)			
Color reagent 1	0.250 ml	0.250 ml	0.250 ml
Color reagent 2	0.250 ml	0.250 ml	0.250 ml
Karıştırıldı ve 15 dakika oda ısısında ,karanlıkta bekletildi. 540 nm de blank tüpüne karşı absorbands alındı. (A2)			
A2-A1 değerleri ile oluşturulan standart eğrisinden örnekler sonuçlandırıldı.			

Nitrat sonucu = (Nitrit+Nitrat) – Nitrit

NOS İzoformlarının Değerlendirilmesi:

Elde edilen dokular %10'luk tamponlu nötral formalinde tespit edildikten sonra, rutin doku takip işlemi sonrası parafine gömüldü. 3-5 µm kalınlığında alınan kesitler, ışık mikroskopik inceleme için hematoksilen-eosin ile boyandı.

İmmünohistokimyasal boyama için, tüm örneklerden (lezyonlu damarlar, kontrol damarlar, pozitif kontrol dokular) pozitif şarjlı lamlara (Menzel-Glaser SuperFrost Ultra Plus®, Almanya) alınan kesitler, Bond-maX (Leica Microsystems, Almanya) otomatik immünohistokimya cihazına yerleştirildi. Cihazda Bond Polymer Refine Detection Kits (Leica, DS9800) kullanılarak sırasıyla şu işlemler gerçekleştirildi:

1. Deparafinizasyon (Bond Dewax Solution, Leica Microsystems),
2. Rehidratasyon (alkol),
3. Yıkama (Bond Wash Solution, Leica Microsystems),
4. Antijenik maskelenmenin giderilmesi (Bond Epitop Retrieval Solution, Leica Microsystems),
5. Yıkama (Bond Wash Solution, Leica Microsystems),
6. Endojen peroksidaz aktivitesinin inhibe edilmesi (Peroxide Block, Leica Microsystems),
7. Yıkama (Bond Wash Solution, Leica Microsystems),
8. Primer antikor (anti-eNOS; Genetex Inc., Irvine, California, anti-iNOS; 1:100 dilüsyon, Genetex Inc., Irvine, California),
9. Yıkama (Bond Wash Solution, Leica Microsystems),
10. Sekonder antikor (Post Primary, Leica Microsystems),
11. Yıkama (Bond Wash Solution, Leica Microsystems),
12. Polymer (Leica Microsystems),
13. Yıkama (Bond Wash Solution, Leica Microsystems),

14. Yıkama (distile su),
15. DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride) ile renk reaksiyonu (Mixed DAB Refine, Leica Microsystems),
16. Yıkama (distile su),
17. Zıt boyama (Mayer hematoksilen),
18. Yıkama (distile su),
19. Yıkama (Bond Wash Solution, Leica Microsystems),
20. Yıkama (distile su) işlemleri cihaz içinde otomatik olarak gerçekleştirildi.

Boyalı preparatlar su bazlı kapama jeli kullanılarak lamel ile kapatıldı.

Hazırlanan kesitler; iki patolog tarafından trinoküler ışık mikroskopunda (Olympus BX-51) incelendi. eNOS için akciğer, iNOS için plasenta dokusu kontrol olarak kullanıldı. Damar duvarı ve endotelyal hücrelerdeki immünreaktivite yoğunluğu; 0 (boyanma yok), 1 (zayıf boyanma), 2 (orta derecede boyanma), 3 (kuvvetli boyanma) şeklinde yarı kantitatif olarak derecelendirildi.

İstatistiksel Analiz: İstatistiksel değerlendirme SPSS (Statistical Package for Social Sciences) programı ile değerlendirildi. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanında nicel verilerin değerlendirilmesinde Student-t testi ve nitel verilerin değerlendirilmesinde Ki-Kare testi uygulandı. Değişkenlerin birbiri ile ilişkilerini belirlemede Pearson korelasyon ve Spearman's korelasyon testi kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan, FM'de varikosel tespit edilmiş ve skrotal renkli doppler ultrason ile kanıtlanmış, infertil varikoselli 60 hasta alındı. Hastaların spermatik ven kanındaki NO düzeyleri ve ven duvarındaki eNOS ve iNOS aktiviteleri değerlendirildi ve kontrol amacıyla yine aynı hastalardan alınan yüzeyel inferior epigastrik vendeki bulgular ile karşılaştırıldı. Aynı zamanda bu hastaların spermatik vendeki eNOS, iNOS aktiviteleri ve NO seviyeleri ile semen parametreleri ve ven çapları arasındaki ilişki karşılaştırıldı.

Hasta grubunun ortalama yaşı $30,12 \pm 5,340$ (21-45) idi. Ortalama hormon seviyelerinin ölçümü; FSH $7,2248 \pm 5,573$ (1,84-24,17) mIU/mL, LH $5,35 \pm 2,94$ (2-15) mIU/mL, Total Testosteron $5,05 \pm 1,85$ (2-10) ng/mL, Prolaktin $12,62 \pm 7,206$ (4,98-50,17) ng/mL, Estriol $32,43 \pm 9,81$ (14-60) pg/mL olarak bulundu. Ortalama variköz ven çapı $3,93 \pm 0,94$ (2-7) mm idi (Tablo 1). Hastaların 18'inde bilateral, 42'sinde sol varikosel mevcuttu. Varikoselin derecesi incelendiğinde grade 1., 2. ve 3. derece varikosel sayıları sırasıyla 1, 28 ve 31 olarak saptandı.

Semen parametreleri açısından hastaların özellikleri: Ortalama semen volümü $3,24 \pm 1,49$ (1-9) ml, sperm sayısı $12,42 \pm 11,20$ (0-45) mil/cc, ortalama hareketlilik yüzdesi $32,30 \pm 15,93$ (0-70) , ortalama normal morfoloji yüzdesi $52,53 \pm 15,87$ (5-91) idi (Tablo 2).

	Ortalama	Minimum	Maksimum	Std.Sapma
YAS (yıl)	30,12	21	45	5,340
FSH (mIU/mL)	7,2248	1,84	24,17	5,57336
LH (mIU/mL)	5,35	2	15	2,944
TTE (ng/mL)	5,05	2	10	1,853
PRL (ng/mL)	12,6292	4,98	50,17	7,20613
E2 (pg/mL)	32,43	14	60	9,813
VVCAPI (mm)	3,93	2	7	0,947
S VOL (ml)	3,24	1	9	1,496
S SAYI (mil/cc)	12,42	0	45	11,207
HAREKET (%)	32,30	0	70	15,937
MORFOLOJİ (%)	52,53	5	91	15,878

Tablo 2: Hasta grubunun demografik özellikleri

(FSH: Folikül stimüle hormon, LH: Lüteizan hormon, TTE: Total testosteron, E2: Estradiol, VV: Variköz ven , S VOL: Sperm volümü, S SAYI: Sperm sayısı)

İncelenen dokulardaki eNOS aktivitesinin belirlenmesi için 4 dereceli, iNOS aktivitesinin belirlenmesi için ise 2 dereceli boyanma yoğunluğuna dayanan bir değerlendirme ölçeği kullanıldı. Boyanma iki farklı patoloj tarafından bağımsız olarak değerlendirildi. Bu ölçüm kriterlerine göre spermatik vendeki eNOS boyanmasının dağılımı aşağıdaki gibidir (Tablo 3) ve (Şekil 3);

- boyanma: 0 hasta (%0)
- + boyanma: 7 hasta (%11,7)
- ++ boyanma: 31 hasta (%51,7)
- +++ boyanma: 22 hasta (%36,7)

Spermatik vendeki iNOS değerlendirmesi aşağıdaki gibidir (Tablo 4) ve (şekil 4):

- boyanma 40 hasta (%66,7)

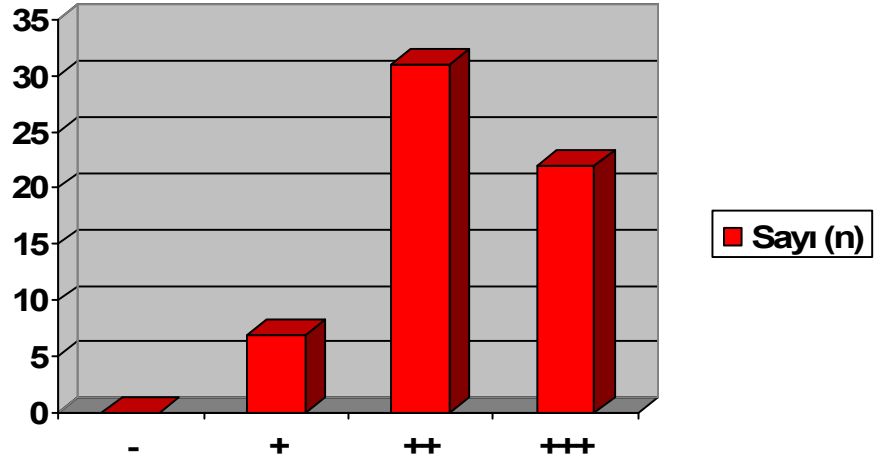
+ boyanma 20 hasta (%33,3) olarak bulundu

Boyanma Derecesi	Sayı (n)	%
-	0	0
+	7	11,7
++	31	51,7
+++	22	36,7
Toplam	60	100,0

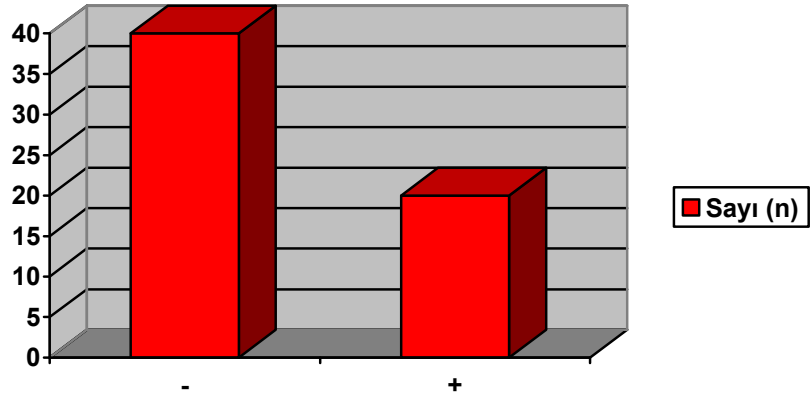
Tablo 3: Spermatik vende eNOS aktivitesinin oranları

Boyanma Derecesi	Sayı (n)	%
-	40	66,7
+	20	33,3
Toplam	60	100,0

Tablo 4: Spermatik vende iNOS aktivitesinin oranları



Şekil 3: Spermatik vende eNOS aktivitesine göre hasta dağılımı



Şekil 4: Spermatik vende iNOS aktivitesine göre hasta dağılımı

Kontrol grubu olarak değerlendirilen yüzeyel inferior epigastrik venin eNOS boyanma aktivitesi dağılımı aşağıdaki gibidir (Tablo 5) ve (Şekil 5):

- boyanma: 1 hasta (%1,7)
- + boyanma: 32 hasta (%53,3)
- ++ boyanma: 20 hasta (%33,3)
- +++ boyanma: 7 hasta (%11,7)

iNOS açısından değerlendirme (Tablo 6) ve (Şekil 6):

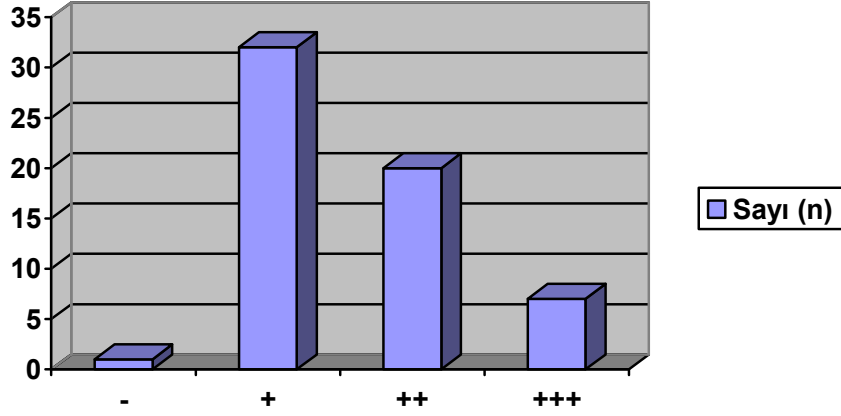
- boyanma 49 hasta (%81,7)
- + boyanma 11 hasta (%18,3)

Boyanma derecesi	Sayı (n)	%
-	1	1,7
+	32	53,3
++	20	33,3
+++	7	11,7
Toplam	60	100,0

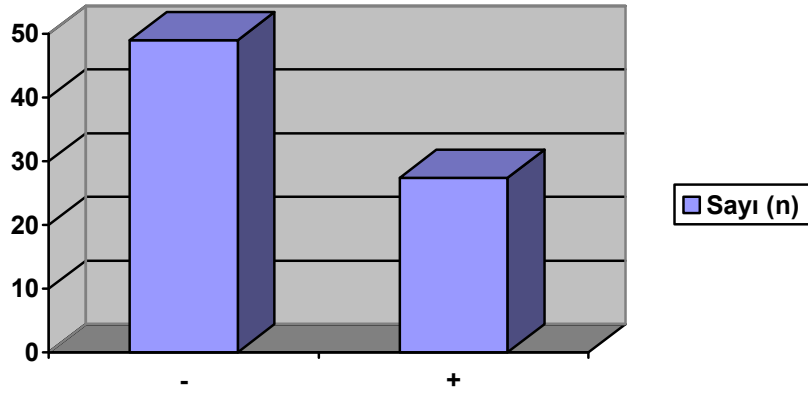
Tablo 5: Kontrol vende eNOS aktivitesinin oranları

Boyanma derecesi	Sayı (n)	%
-	49	81,7
+	11	18,3
Toplam	60	100,0

Tablo 6: Kontrol vende iNOS aktivitesinin oranları



Şekil 5: Kontrol vende eNOS aktivitesine göre hasta dağılımı



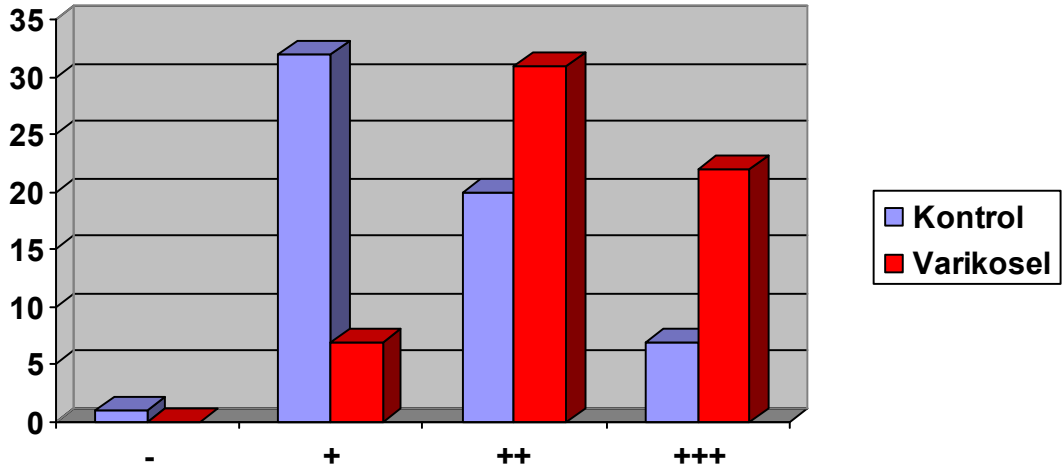
Şekil 6: Kontrol vende iNOS aktivitesine göre hasta dağılımı

Boyama aktivitesine dayanarak yapılan eNOS seviye karşılaştırmasında spermatik vendeki eNOS seviyesinin kontrol grubu olarak alınan yüzeyel inferior epigastrik vendekine göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$). (Tablo 7) ve (Şekil 7).

Her bir vaka kendi içinde bireysel olarak incelendiğinde toplam 39 hastada spermatik venin eNOS açısından daha yüksek dereceli boyandığı görülürken, 10 hastada boyanma derecesinin eşit olduğu, 11 hastada ise kontrol veninde boyanmanın daha yüksek dereceli olduğu görülmüştür.

		ENOS				Toplam	P değeri
		-	+	++	+++		
Kontrol	Sayı	1	32	20	7	60	0,000
	(%)	1,7	53,3	33,3	11,7	100,0	
Varikosel	Sayı	0	7	31	22	60	
	(%)	0,0	11,7	51,7	36,7	100,0	
Toplam	Sayı	1	39	51	29	120	
	(%)	0,8	32,5	42,5	24,2	100,0	

Tablo 7: Kontrol ven ve spermatik vende eNOS aktiviteleri oranları

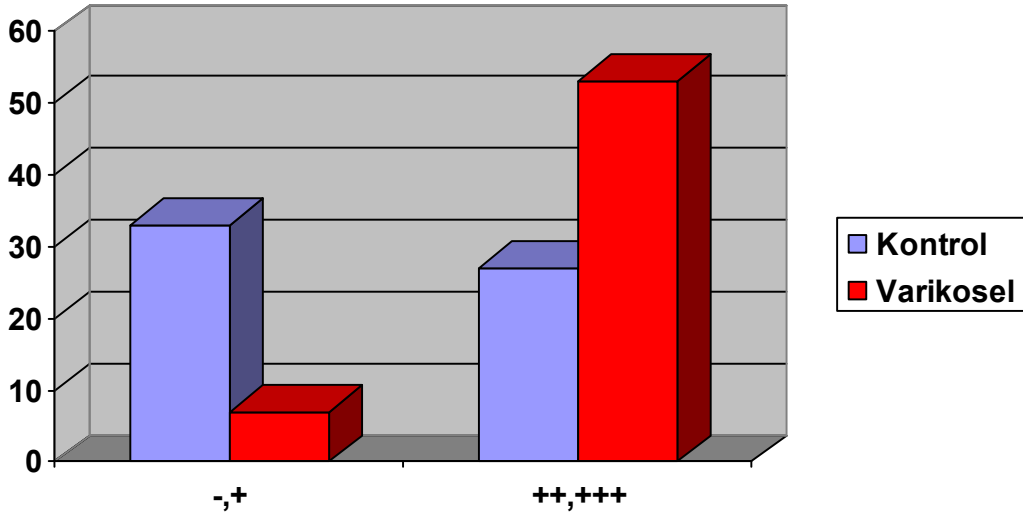


Şekil 7 : Kontrol ven ve spermatik vende eNOS aktivitelerinin karşılaştırılması

Her iki grup için eNOS boyanma yoğunluğu, kuvvetli boyanma (++, +++) ve zayıf boyanma (-, +) şeklinde 2 gruba indirgenerek yapılan karşılaştırmada; spermatik vendeki kuvvetli boyanma oranı kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0,05$). Bu karşılaştırmanın odd's değeri 9,254 (Aralık=3,622-23,644) olarak saptandı (Tablo 8) ve (Şekil 8)

		ENOS2		Toplam	P değeri	Odd's değeri
		-, +	++, +++)			
Kontrol	Sayı (n)	33	27	60	0,000	9,254
	(%)	55,0	45,0	100,0		
Varikosel	Sayı (n)	7	53	60		
	(%)	11,7	88,3	100,0		
Toplam	Sayı (n)	40	80	120		
	(%)	33,3	66,7	100,0		

Tablo 8: Her iki grupta eNOS açısından zayıf ve kuvvetli boyanma oranları



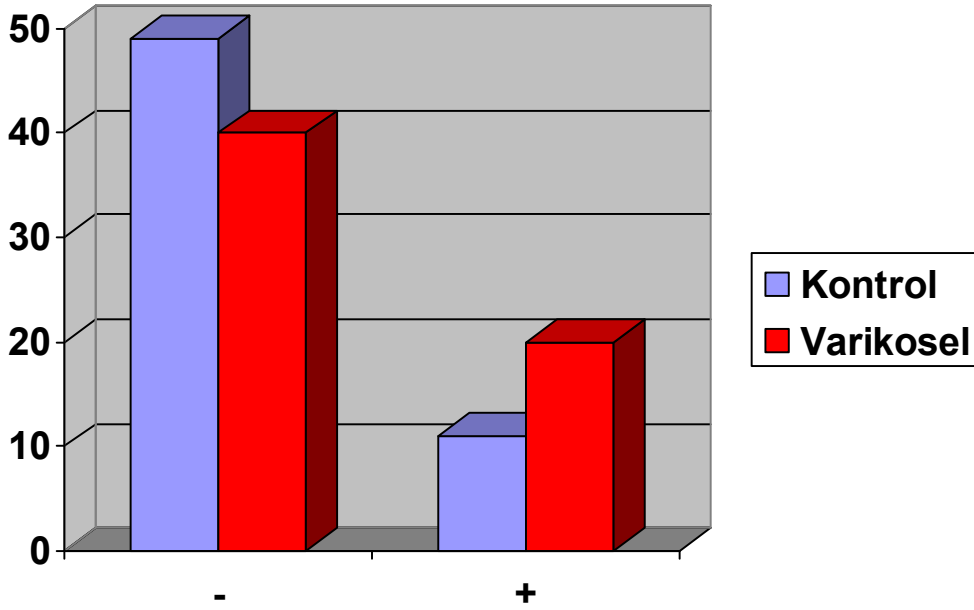
Şekil 8: Her iki grupta eNOS açısından zayıf ve kuvvetli boyanma oranları

Spermatik ven ile kontrol grubu olarak alınan yüzeyel inferior epigastrik ven karşılaştırıldığında iNOS boyanma aktivitesi açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). (Tablo 9) ve (Şekil 9)

Vakaların bireysel karşılaştırmalı analizinde, 15 hastada spermatik venin iNOS açısından daha yüksek dereceli boyandığı görülürken, 39 hastada boyanma derecesinin eşit olduğu, 6 hastada ise kontroldeki boyanmanın daha yüksek dereceli olduğu görüldü.

		iNOS		Toplam	P değeri
		-	+		
Kontrol	Sayı (n)	49	11	60	0,094
	(%)	81,7	18,3	100,0	
Varikosel	Sayı (n)	40	20	60	
	(%)	66,7	33,3	100,0	
Toplam	Sayı (n)	89	31	120	
	(%)	74,2	25,8	100,0	

Tablo 9: Kontrol ven ve spermatik vende iNOS aktivite oranları



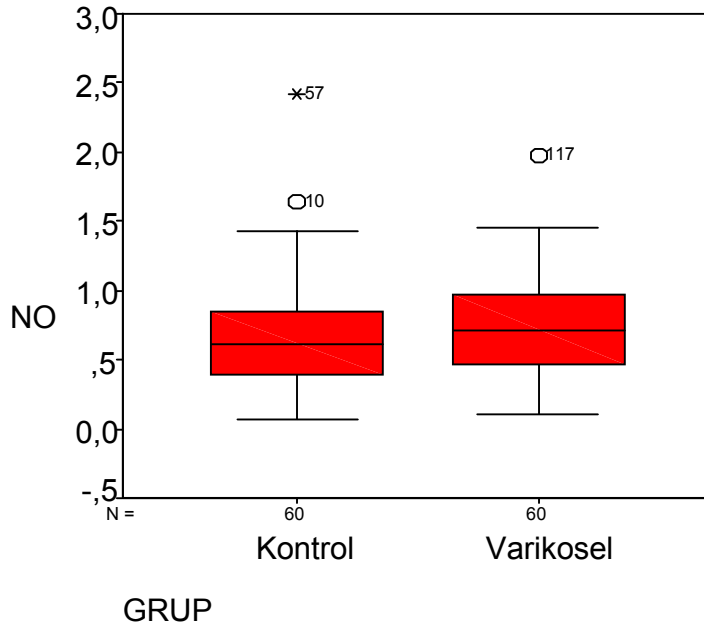
Şekil 9 : Kontrol ven ve spermatik vende iNOS aktivite oranları

Spermatik ven kanındaki NO seviyesi ortalama $0,7246 \pm 0,371$ (0,1-1,97) mg/L iken kontrol grubu olan yüzeyel inferior epigastrik vende $0,6638 \pm 0,410$ (0,07-2,42)

mg/L idi. İki grup arasında bu açıdan istatistiksel anlamda fark saptanmadı ($p>0,05$). (Tablo 10) ve (Şekil 10)

NO	Ortalama	Minimum	Maksimum	Std. Sapma	P değeri
Kontrol (mg/L)	0,6638	0,07	2,42	0,41040	0,394
Varikosel (mg/L)	0,7246	0,10	1,97	0,37149	

Tablo 10: Spermatik ven ve kontrol vendeki ortalama NO seviyeleri



Şekil 10: Spermatik ven ve kontrol vendeki ortalama NO seviyeleri

Spearman's korelasyon testine göre spermatik ven duvarındaki eNOS veya iNOS aktivitesi ile yine bu vendeki NO seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı ($p>0,05$). Benzer şekilde spermatik ven duvarındaki eNOS aktivitesi ve kandaki NO seviyeleri ile variköz ven çapı arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p>0,05$). Yine aynı korelasyon testine göre FM bulgusu ile eNOS, iNOS aktivitesi ve NO seviyesi arasında anlamlı korelasyon saptanmadı ($p>0,05$).

Hastaların semen parametrelerinin analizinde, ortalama semen hacmi $3,24\pm 1,496$ (1-9) ml, sperm sayısı $12,42\pm 11,207$ (0-45) mil./cc, ortalama hareketli sperm yüzdesi $32,30\pm 15,937$ (0-70), normal morfoloji yüzdesi $52,53\pm 15,878$ (5-91) idi (Tablo 11)

Spermatik ven duvarındaki eNOS ve ven kanındaki NO ile semen parametreleri arasında da istatistiksel bir ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

TARTIŞMA

NO'nun dolaşım sistemindeki rolü konusunda son yıllarda önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Özellikle damar endoteli üzerine vazodilatatör etkisi artık çok iyi bilinmektedir. Fakat fizyolojik ortamlardaki etki ve durumunun bilinmesi yanında patolojik durumlardaki etki veya etkileşimlerinin de saptanması önemlidir. Özellikle kardiyovasküler sistem üzerine yapılan çalışmalarda bu rol ortaya konulmuştur. NO, aynı zamanda kadın ve erkek reproduktif sistemin birçok fonksiyonunu regüle eden serbest bir radikaldir ve fizyolojik seviyelerin üzerinde sperm ve testis fonksiyonlarına ve steroid yapımı üzerine negatif etkileri olabilir (132). Aynı zamanda NO'nun seminifer tübüllerdeki miyofibroblastların gevşemesine aracılık etmesi ve böylece sperm transportu için gerekli olan seminifer tübüllerin peristaltik aktivitelerinde inhibe edici rolü olabileceği iddia edilmiştir (133). NO'nun fizyopatolojik etkilerinin fizyolojik seviyelerin üzerinde gerçekleştiğini düşünen birçok araştırmacı NO'nun bu seviyelere çıkmasının altında yatan enzimatik süreci, dolayısıyla NO'nun vücuttaki üretiminden sorumlu olan NOS izoenzimlerini araştırmışlardır.

Literatürde, eNOS ve NO'in erkek üreme sistemindeki olası etkilerini belirlemeye yönelik çeşitli çalışmalar vardır. Yapılan bu çalışmalarda NO'nun testiste leydig hücre steroid yapımının inhibisyonu, germ hücre apoptozisi, sertoli hücresi tight junction dinamikleri ve testiküler kan akımının düzenlenmesi gibi etkileri saptanmıştır (134,135,136,137). Fakat, NO'nun temelde bir vasküler patoloji olarak bilinen varikoseldeki rolü konusunda henüz tatminkar çalışmalar olmaması, bizi bu çalışmaya yönlendirmiştir. Vücutta NO'nun bilinen yaygın etkinliği ve önemini göz önüne alarak erkek infertilitesinin önemli sebeplerinden olan varikosel durumunda NOS izoenzimleri ve NO'nun etki ve konumunu belirlemeye çalıştık.

Yapılan çalışmalarda adolesan varikoselli çocukların leydig hücreleri, sertoli hücreleri ve damar duvarında NOS aktivitesi bulunmuştur. Middendorf ve ark. ile Zini ve ark.'nın çalışmalarında NOS izoformlarından eNOS'un, germ hücre diferansiasyonu ve spermatogeneziste rol oynayabileceği ve bu çalışmalarda eNOS'un otokrin ve parakrin mekanizmalarla steroid yapımını düzenlediği ve peritübüler miyofibroblastları etkileyerek tübül kasılmasını düzenlediğini öne sürülmektedir (135,138). Variköz vendeki NOS ekspresyonu ve bunun üreme sistemine olan etkisi halen merak konusudur.

Romeo ve ark.'nın 2001 yılında 10 adolesan varikoselli hastanın spermatik venlerindeki NO üretimi üzerine yapmış olduğu çalışmada, spermatik vende periferik vene kıyasla daha yüksek NO düzeyleri saptanmıştı (132). Yine aynı çalışmada hem western-blot hem de immunohistokimyasal yöntem kullanılarak damar duvarında eksprese edilen NOS izoformlarına bakılmış ve iNOS'un aktivasyon göstermediği, eNOS'un ise spermatik damar duvarında kontrol grubundan daha yaygın bir şekilde (+) immün reaksiyon gösterdiği tespit edilmişti. Fakat bu çalışmada kontrol vendeki eNOS ekspresyonu da (+) immün reaksiyon göstermişti. Bizim çalışmamızın ana noktası olan varikoselli hastaların spermatik ven endotelindeki NOS izoformları konusunda; spermatik ven endotelinde kontrol grubu olarak alınan yüzeysel inferior epigastrik vene göre anlamlı derecede yüksek eNOS ekspresyonu saptandı. Bu açıdan benzer metodolojik çalışma içinde yapılan Romeo ve ark.'nın çalışması ile bizim bulgularımız uyumludur. Yine aynı çalışmada sınırlı sayıda (n=10) yapılan iNOS ekspresyonu değerlendirmesinde ise sayı herhangi bir pozitif boyanma belirtilmemiştir (132).

Bizim çalışmamızda varikosel grubunda %33,3 (n=20), kontrol grubunda ise %18,3 (n=11) oranında (+) iNOS boyanması saptanmıştır. İki grup arasında farklılık görülse de bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Yine de diğer çalışmaya göre belirgin daha yüksek hasta sayısı (n=60) ile yapılan çalışmamızda elde edilen bu sonuç iNOS'un varikoselli hastaların endotelindeki ekspresyonu ve rolü açısından önemli bir bulgu sayılabilir. Fakat hastaların bireysel olarak kendi içinde kontrolü

esas ı ile yapılan çalışmamızda, 60 hastanın 39'unda İNOS boyanma derecesinin incelenen her iki dokuda aynı olması, dolayısıyla variköz ven ile periferik ven arasında İNOS açısından anlamlı fark olmaması, İNOS ekspresyonunun variköz damara özgül olmayıp, hastanın tüm endotel yapısına bağlı bir durum olabileceği fikrini desteklemektedir. Bundan yola çıkarak da varikoselin etiyopatogenezinde kişinin bireysel endotel yapısının lokal faktörlerden daha ön planda olabileceğini düşünmektedir. Varikoselli hastalardaki lokal eNOS ekspresyonu konusundaki bir diğer çalışma ise Shiraishi ve ark.'nca yapılmıştı (139). İnfertil varikoselli 27 hastada yapılan çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak internal spermatik ven endotelinde değil testiküler dokudaki NOS ekspresyonu araştırılmış ve sağlıklı (normal spermioqramı olan ve varikoseli olmayan) 5 hasta ile yapılan karşılaştırmada eNOS ekspresyonu açısından farklılık olmadığı fakat varikoselli hasta grubunun testiküler dokusunda belirgin bir şekilde fazla İNOS ekspresyonu gerçekleştiği gözlemlenmişti (139).

Dolayısıyla onların görüşüne göre varikoselli hastalarda kliniğin oluşması ve spermin bozulmasına etmen olan bu hastalarda intratestiküler İNOS aşırı ekspresyonuna bağlı artmış NO idi. Fakat metodolojik olarak bu çalışmada eNOS spermatik vende değil testis dokusunda bakılmıştı ve kontrol grubu olarak da hastanın kendisine ait bir doku değil farklı sağlam deneklerden alınan testis dokusu kullanılmıştı (139).

Romeo ve ark.'nın varikoselli hastaların testiküler hücreler üzerine yaptığı buna benzer bir başka çalışmasında varikoselli hastaların leydig hücrelerinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek İNOS aktivitesi saptanırken eNOS her iki grupta da yüksek aktivite göstermesinden dolayı istatistiksel anlamda fark saptanmamıştı (140). Bu durum bir önceki çalışma ile uyumlu olup NO'daki artışın testiküler İNOS aktivitesindeki artıştan kaynaklanabileceğini ve spermatogenezde bozulma ve sperm disfonksiyonunun bu nedenden dolayı olabileceği fikrini desteklemektedir. Testiküler dokudaki enflamatuar süreçlerde arttığı bilinen İNOS ekspresyonu, varikoselin patogenezinde enflamatuar bir yönün de olduğunu

düşündürebilir. Her ne kadar bu son iki çalışmadaki metodolojik yöntem ve incelenen doku farklı olsa da bizim çalışmamızda olduğu gibi varikoselli hasta grubunda artmış iNOS ekspresyonu iNOS'un bu hasta grubunda infertilite konusunda önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızın ikinci aşamasında varikoselli hastaların internal spermatic venleri ve kontrol amaçlı olarak periferik venlerinden alınan serumda NO metaboliti olan nitrit ölçümü yapılarak NO aktivitesini belirlemeye çalıştık. Spermatic vende ortalama $0,7246 \pm 0,371$ mg/L iken kontrol grubunda bu değer $0,6638 \pm 0,410$ mg/L idi. Spermatic vende NO seviyesi hafif yüksek saptansa da bu, istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Yapılan benzer diğer çalışmalarda ise spermatic vende istatistiksel olarak yüksek değerler saptanmıştı. Romeo ve ark.'nın yaptığı çalışmada spermatic vende yüksek NO düzeyleri saptanmış olmasına rağmen, bunun kaynağı olarak variköz vendeki NOS izoformlarının ekspresyonu değil, testiküler hücrelerden üretilen NO olabileceği ileri sürülmektedir. Aynı zamanda bu çalışmada NO seviyesini belirlemek için NO metabolitleri yerine NO prekürsörü olan L-NHA seviyesini değerlendirmişlerdi. Bunun sebebi olarak da NO metabolitlerinin kaynağının sadece NOS değil, diyetsetel içeriğinde olabileceği idi. Mitropoulos ve ark.'nın ve Özbek ve ark.'nın çalışmalarında ise subfertil erkeklerde variköz venlerde optimal değerlerin yaklaşık 8-25 katına ulaşan NO salınımı saptanmıştı (141,142). İlk grubun çalışmasında bu yüksekliğin aynı zamanda artmış peroksinitrit ve S-nitrosothiol seviyeleri ile de ilişkili olabileceği yorumu yapılmıştı (142). Bu çalışmanın olumsuz yönü ise çalışmanın sadece 5 vakalık bir grupta yapılmış olmasıydı.

Türkyılmaz ve ark.'nın 13 adolesan varikoselli hasta üzerinde yaptığı diğer bir çalışmada spermatic vende periferik vene göre anlamlı derecede yüksek NO seviyeleri saptanmıştır. Fakat bu çalışmada herhangi bir doku örnekleme ve NOS izoform ekspresyonu belirlenmediğinden NO'in kaynağı konusunda fikir almak mümkün olmadı (143). Sonuç olarak literatürde varikoselli hastaların spermatic

veninde optimal değerlerin oldukça üzerinde NO aktivitesi belirlenmiştir. Fakat bizim çalışmamızda endoteldeki anlamlı NOS aktivitesine karşın NO'da bu beklenen artış görülmemiştir. Bu durum için çeşitli tezler ne sürülebilir. Çalışmamızda NOS ekspresyonu hücresel boyamada yüksek görülmekle birlikte bu NOS aktivitesi disfonksiyonel olabilir. Bu olası disfonksiyon enzimatik sürecin herhangi bir safhasındaki probleme bağlı ya da substrat eksikliğine bağlı olabilir. Yine buna benzer şekilde endotel disfonksiyonunun ve eNOS aşırı ekspresyonunun ileri safhalarında NOS down-regülasyonu NO'nun düşük üretimine neden olmuş olabilir.

Çalışmamızın alt gruplarının incelenmesinde ise ek bazı sonuçlara ulaştık. Varikoselin derecesi ile eNOS ekspresyonu karşılaştırıldığında bu konuda herhangi bir bağlantı olmadığı dolayısıyla varikoselin derecesi arttıkça NOS ekspresyonunda bir artış olmadığı gözlendi. Benzer şekilde iNOS ekspresyonu ve NO seviyesi ile yapılan ilişkilendirmede varikoselin derecesi ile bu parametreler arasında herhangi bir korelasyon olmadığı saptandı. Maksimal variköz ven çapı ile yapılan istatistiksel değerlendirmede de bir bağlantı görülmedi ($r < 0.2$).

Her bir semen parametresi (sayı, hareket ve morfoloji) ile NOS izoformlarının ekspresyonu ve NO düzeylerinin incelenmesinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki izlenmedi ($r < 0.2$). Çalışma grubumuzun literatürdeki benzer, varikoselli hastalarda spermatik vende NOS ekspresyonunun değerlendirildiği çalışmalardan farklı yönü, çalışma grubunun spermatogenezin aktif olarak başlamadığı veya sperm rneği veremeyen adolesan hasta grubu yerine erişkin ve sperm parametrelerinde bozukluk saptanan hastalardan seçilmiş olmasıydı. Literatürde yalnızca Shiraishi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada erişkin popülasyon alınmış, ama o grupta da spermatik vende değil, testis dokusunda NOS ekspresyonu değerlendirilmişti. Yine bu çalışmada spermatik vendeki NO düzeyi ile total motil sperm sayısı arasında ters korelasyon saptanmıştı. Daha önce belirtildiği gibi çalışmamızdaki bulgular ise bu sonucu desteklememektedir.

Genel olarak çalışmamızı özetlersek; bu çalışma , prospektif olarak bu konuda yapılan en geniş serili araştırmadır. Hasta grubunun varikoselli dokunun yanı sıra normal olduğu varsayılan periferik ven dokusundan (yüzeyel inferior epigastrik ven) rnekleme ve karşılaştırma yapılması bu konuda spekülatif olmayan ama değerli bilgiler vermiştir. Variköz ven dokusunda eNOS ekspresyonunun anlamlı bir şekilde yüksek bulunması, bu konuda yeni çalışmaların nn aması bakımından dikkate değerdir.

eNOS ekspresyonunun spermatik vende fazla olması gelecek dönemde varikosel veya varikosele bağlı infertilite tedavisinde eNOS veya NO'ya yönelik medikal ve hatta genetik tedavilerin önemine dikkat çekmektedir. Bu durum ayrı bir araştırma konusu olmaya adaydır. Yine bizim bu çalışmamız, tedaviden ziyade sözü edilen klinik durumun patofizyolojisinin anlaşılması bakımından değerli ve nc bir çalışmadır.

SONUÇLAR

Özellikle 1990'lı yıllardan itibaren NO'nun endotelial sistem üzerinde olan yaygın etkileri ve öneminin keşfedilmesiyle birlikte bu molekül ve onu üreten enzimatik sistem yoğun bir araştırma konusu olmuştur. Son yıllarda ürogenital sistem üzerine olan pozitif etkilerini ortaya koyan yayınlar olmakla birlikte infertilite ve varikosel üzerindeki etkileri halen tartışmalıdır. Spermatik venlerin variköz genişlemesi ve disfonksiyonu ile karakterize olan varikoselde özellikle NO'nun fizyolojik seviyelerin üzerinde üretiminin rol oynayabileceğini gösteren yayınlar mevcuttur. Tarafımızca bu konudaki en geniş varikoselli infertil hasta serisi ile yapılan bu prospektif çalışmada aynı denekten alınan variköz spermatik ven ve sağlam bir periferik ven NOS izoformlarının ekspresyonu ve NO üretim seviyeleri açısından karşılaştırılmıştır.

Bulgularımız sonucunda her iki dokuda da eNOS ve iNOS ekspresyonunun gerçekleşmesiyle beraber variköz spermatik ven dokusunda eNOS'un istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla eksprese edildiği, fakat iNOS ekspresyonunda fark olmakla beraber bunun istatistiksel anlam taşımadığı tespit edilmiştir. İlginç şekilde spermatik vendeki bu ekspresyon fazlalığı NO seviyelerine yansımamış ve sağlam periferik vene göre hafif bir yükseklik gözlenmiştir.

Yine de spermatik vende eNOS ekspresyonunun fazlalığı bugüne kadar olan literatürden farklı bir durum olsa da NO'nun beklenen düzeyde yüksek olmaması tartışmaya değer bir durumdur. Bu durum spermatik vendeki NOS izoformlarının ultrastrüktürel ve genetik düzeyde araştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Eş zamanlı olarak hem testiküler doku hem de periferik sağlam doku örneklerinin de eşlik edeceği ve sağlam kontrol gruplarının da dahil edileceği geniş kapsamlı çalışmalar bu konuyu aydınlatmada daha yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Noske H.D. and Weidner W. : Varicocele – A historical perspective . World J. Urol. 1999;17 (3) :151-157
2. Hendry W.F., Sommerville I.F., Hall ve ark.: Investigation and treatment of the subfertile male.BJU 1973 :45:684-692
3. Cockett A.T.K., Takihara M and Cosentino M.J.: The varicocele. Fertil Steril 1984;41:1-12
4. Gorelick J.I. and Goldstein M.: Loss of fertility in men with vricocele. Fertility Steril 1993;59:613-616
5. Witt M.A and Lipshultz L.I.: Varicocele: a progressive o static lesion ? Urology 1993 ; 42:541-543
6. Saypol D.C., Howards S.S, Turner T.T et al: Influence of sugically induced varicocele on testicular blood flow, temperature and histoogy in adult rats and dogs. J Clin. Invest. 1981 ;68: 39-45
7. Krush E.D. : What is the incidance of varicocele in a fertilitie population? Fertil Steril; 1987:48(3):510-511
8. Hargreave T.B.: Varicocele – a clinical enigma . BJU 1993;72(4):401-408
9. Pinto K.J., Kroovand R.L, Jarow J.P.: Varicocele related testicular atrophy and its predictive effect upon fertility.J.Urol. 1994;152:788-790
10. Walmsley K., Coleman J.A., Goldstein M.: The inheritance of varicocele.J. Urol. 2001 ; 165 (suppl 5):334-337
11. Gruetter C.A., Barry B.K., McNamara d.B.: Relaxation of bovine coronary artery and activation of coronary arterial guanylate cyclase by nitric oxide, nitroprusside and a carcinogenic nitrosamine . J.Cyclic Nucleotide res. 1979; 5: 211-244
12. Radomski M.W., Palmer R.M., Moncada S.: Endogenosus nitric oxide inhibitis human platelet adhesion to vascular endothelium. Lancet 1987;2:1057-1058

13. Garg U.C., Hassid A.: Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromocyclic guanosine monophosphate inhibits mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J.Clin.Invest.* 1989;83: 1774-1777
14. Dusting G.J.,: Nitric oxide in coronary artery disease, roles in atherosclerosis, myocardial infarction and heart failure. *EXS* 1996; 76: 33-35
15. Dusting G.J.,: Nitric oxide in cardiovascular disorders. *J. Vasc. Res.* 1995; May-June: 32(3) :141-143
16. Nathan C., Xie Q.W.: Nitric oxide synthases. Roles, tolls and controls. *Cell* 1994;78: 915-918
17. Bivalacqua T.J., Champion H.C., Hellstrom W.J.G.: Implications of nitric oxide synthases isoforms in the pathophysiology of peyronie's disease. *Int. J. Imp.Res* 2002;14:345-352
18. Setchell BP, Maddoks S, Brooks DE et al: Anatomy, vasculature innervation and fluids of the male reproductive tract. In Knobil. *The Physiology of Reproduction*. 2nd edn. 1063-1175:1994
19. Pettersson S, Soderholm B, Persson JE, et al: Testicular blood flow in man measured with versus occlusion plethysmography and xenon-133. *Scand J Urol Nephrol* 1973;7:115-119.
20. Jarow JP. Intratesticular arterial anatomy. *J Androl.* 1990;11(3):255-9. 3.
21. Fowler R, Stephens FD. The role of testicular vascular anatomy in the salvage of high undescended testes. *Aust New Zeal J Surg.* 1959;29:92-106.
22. Chehval MJ, Purcell MH. Deterioration of semen parameters over time in men with untreated varicocele: Evidence of progressive testicular damage. *Fertil Steril.* 1992;57(1):174-7.
23. Silber SJ. Microsurgical aspects of varicocele. *Fertil Steril.* 1979;31(2):230-2.
24. Shafik A, Moftah A, Olfat S, Mohi-el-Din M, el-Sayed A. Testicular veins: anatomy and role in varicocelogenesis and other pathologic conditions. *Urology.* 1990;35(2):175-82.
25. Coolsaet BL The varicocele syndrome: venography determining the optimal level for surgical management. *J Urol.* 1980;124(6):833-9.
26. Beck EM, Schlegel PN, Goldstein M. Intraoperative varicocele anatomy: a

- macroscopic and microscopic study. J Urol. 1992;148(4):1190-4.
27. Wishahi MM. Anatomy of the venous drainage of the human testis: testicular vein cast, microdissection and radiographic demonstration. A new anatomical concept. Eur Urol. 1991;20(2):154-60.
 28. Wishahi MM. Detailed anatomy of the internal spermatic vein and the ovarian vein. Human cadaver study and operative spermatic venography: clinical aspects. J Urol. 1991;145(4):780-4
 29. Turek PJ, Lipshultz LI. The varicocele controversies. I. Etiology and pathophysiology. AUA update series, Vol.14, Lesson 13. Baltimore: American Urological Association; 1995. P.106-11.
 30. Hopps CV, Lemer ML, Schlegel PN, Goldstein M. Intraoperative varicocele anatomy: a microscopic study of the inguinal versus subinguinal approach. J Urol. 2003;170(6 Pt 1):2366-70.
 31. Asuman KILINÇ, Kamer KILINÇ : Nitrik Oksit ; Biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. Palme Yayıncılık 1. baskı 2003
 32. Albecht E., Stagemen C., Heeringa P., Henning R.H., Van Goor H.: Protective role of endothelial nitric oxide synthase.J.Pathol.2003; 199:8-17
 33. Hua Wan, Yu Amy. Nitric oxide synthase in motor neurons after axotomy. The J Histochem and cytochem 1994; 42(4): 451-7.
 34. Durate ID, Lorenzetti BB, Ferreira SH. Peripheral analgesia and activation of NO-cGMP pathway. Eur J Pharmacol 1991; 206: 163-4.
 35. Katayama Y. Nitric oxide:Mysterious messenger. Dojindo News Letter 1995; 1:1-20.
 36. Olesen J, Thomsen LL, Iversen H. Nitric oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches. Trend Pharmacol Sci Engl 1994; 15(5): 149-53.
 37. Haeflinger IO, Flammer J, Luscher TF. Nitric oxide and endothelium are important regulators of human ophtalmic artery. Invest Ophtalmol Vis Sci 1992; 33(7):2340-8.
 38. Bachmann S, Mundel P. Nitric oxide in the kidney: Synthesis, localisation and function. Am. J Kidn Dis. 1994; 24 (1): 112-29.
 39. Stark ME, Szurszewski JH. Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic

- fuction disease. *Gastroenterology* 1992; 103: 1928-49.
40. Rossaint R, Falke KJ, Lopez F, Slama K. Inhaled nitric oxide for adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1993; 328: 399-402.
 41. Burnett AL, Lowenstien CJ, Brecht DS. Nitric oxide a physiologic mediator of penil erection. *Science* 1992; 257: 401- 3.
 42. Hegesh E, Sniloah J. Blood nitrates and infantile methemoglobinemia. *Clin Chim Acta* 1982; 125: 107-15.
 43. Richard K. Nitric oxide synthases. *The Biochemist* . Nov.1994; 16(5): 3-6.
 44. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *The J. Biol. Chem.* 1993; 268 (17): 12231-4.
 45. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J.* 1994; 298: 249-58.
 46. Bossenge E. Coronary vasomotor responses: role of endothelium and nitrovasodilators. *Cardiovasc Drug Ther (USA)* 1994; 8(4): 601-10.
 47. Drexler H, Zeiher AM, Meinzerk H. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolemic human. *J Clin Invest* 1992; 90: 1248-53.
 48. Muuruganandam A, Mutus B. Isolation of nitric oxide synthase from human platelets. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;165: 802-9.
 49. Salvemini D, Denucci G, Gryglewski RJ. Human neutrophils and mononuclear cells inhibit platellet agregasyon by releasing a nitric oxide-like factor. *Pros Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 6328-32.
 50. Usmar VD, Radomski M. Free radicals in the vasculature: The good, the bad and the ugly. *The Biochemist* 1994; 16(5): 15-22.
 51. Bogaert GA, Kogan BA, Mevorach RA: Effects of endothelium-derived nitric oxide on renal hemodynamics and function in the sheep fetus. *Pediatr. Res.* 34:755-761:1993
 52. Solhaug MJ, Wallace MR, Granger JP: Endothelium-derived nitric oxide modulates renal hemodynamics in the developing piglet. *Pediatr. Res.* 34:750-754:1993
 53. Lanzone JA, Gulmi FA, Chou SY et al: Renal hemodynamics in acute

- unilateral ureteral obstruction : Contribution of endothelium-derived relaxing factor. *J. Urol.* 153:2055-2059:1995
54. Andersson KE, Persson K: Nitric oxide synthase and the lower urinary tract : Possible implications for physiology and pathophysiology. *Scand. J. Urol. Nephrol* 175:45:1995
 55. Ozawa H, Chancellor MB, Jung SY et al: Effect of intravesical nitric oxide therapy on cyclophosphamide-induced cystitis. *J. Urol.* 162:2211:1999
 56. Truss MC, Stief CC, Uckert S et al: Initial clinical experience with the selective phosphodiesterase (PDE)-1 isoenzyme inhibitor vinpocetine in the treatment of urge-incontinence and low compliance bladder. *J. Urol.* 157:727:1997
 57. Burnett AL, MaGuire MP, Tillman SL et al: Characterization and localization of nitric oxide synthase in the human prostate. *Urology* 45:435-439:1995
 58. Takeda M, Thang R, Shapiro E et al: Effects of nitric oxide on human and canine prostates. *Urology* 45:440-446:1995
 59. Traish AM, Kim NN, Marland RB et al: Physiological and biochemical mechanism of female sexual arousal. In new perspectives in the management of female sexual dysfunction ç boston university school of medicine and the department of urology oct. 22-24:1999
 60. Usmar VD, Radomski M. Free radicals in the vasculature: The good, the bad and the ugly. *The Biochemist* 1994; 16(5): 15-22.
 61. Sigman M., Howards S S. Male infertility. “ Campbell’s Urology ”. Walsh P., Retik A., Vaughan E.D., Wein A.J. (Editors). Seventh edition.1998 , 43:1287-1330
 62. Smith’s General Urology sixteenth edition 2004
 63. Campbell’s Urology eighteenth edition 2005
 64. Akbay E., Cayan S., Doruk E. ve ark.: The prevalence of varicocele and varicocele-related testicular atrophy in Turkish children and adolescents.*BJU Int.* 2000; 86 (4) :490-493
 65. Krush E.D. : What is the incidence of varicocele in a fertile population? *Fertil Steril*; 1987;48(3):510-511

66. Hargreave T.B.: Varicocele – a clinical enigma . BJU 1993;72(4):401-408
67. Nieschlag E., Hertle L., Fishedick A., Behre H.M.: Treatment of varicocele :counselling as effective as occlusion of the vena spermatica . hum. Reprod. 1995;10(2):347-353
68. Walmsley K., Coleman J.A., Goldstein M.: The inheritance of varicocele.J. Urol. 2001 ; 165 (suppl 5):334-337
69. Lipschultz L.I., Corriere J.N.: Progressive testicular atrophy in the varicocele patient.J.Urol.1977;117:175-180
70. Braedel H.U., Steffens J., Ziegler M et al:A possible ontogenic etiology for idiopathic left varicocele.J.Urol. 1994;151:62-66
71. Naughton C.K., Nangia A.K. and Agarwal A.: Varicocele and male infertility: part 2. Hum. Rep. Update 2001; 7(5) :473-481
72. Kohler F.P: On the etiology of varicocele.J.Urol 1967;97:741-742
73. Ahlberg N.E.,Bartley O., Chidekel N et al: Phlebography in varicocele scroti.Acta Radiol. Diag. 1966;4 :517-528
74. Coolsaet BLRA: The varicocele syndrome: venography determining the optimal level for surgical management.J.Urol. 1980;124:883-926
75. Shafik A., Moftah A., Oflat Set al: testicular veins anatomy and role in varicocelogenesis and other patalogic conditions.Urology 1990;35(2):175-182
76. Beck E.M, Schlegel P.N, Goldstein M. : Intraoperative varicocele anatomy: A macroscopic amd microscopic study.J.Urol.148:1190-1195
77. Goluboff E.T, Chang D.T., Kirsh A.J., Fisch H.Incidance of external spermatic veins in patients undergoing inguinal varicocelectomy.Urology. 1994; 44 : 6-12
78. Grillo-Lopea A.J. Primary right varicocele.1979; 105 :540-544
79. Comhaire F., Zalata A., Schoonjans F.: Varicocele : indications for treatments.Int. J. Androl 1995 ;18 (suppl 2):67-71
80. Etriby A.A., Ibrahim A.A., Mahmoud K.Z. et al :Subfertility and varicocele .1. venogram demonstration of anastomosis sites in subfertile men. Fertil Steril 1975 ;26(10) :1013-1017
81. Ahlberg N.E., Bartley O., Chidekel N.et al:Phlebography in varicocele

- scroti. *Acta Radiol Diag.* 1996 ,abstract 4, 517-528
82. Steno O., Koumans J and De Moor P : Adrenal cortical hormones in the spermatic vein of 95 patients with left varicocele. *Andrology* 1976 ;8 :101-104
 83. Turner T.T. and Lopez T.j.: Testicular blood flow in peri-pubertal and older rats with unilateral experimental varicocele and investigation into the mechanism of the bilateral response to a unilateral lesion. *J.Urol* 1990;144:1018-1021
 84. WHO: The influence of varicocele on parameters of fertility in a large group of men presenting to infertility clinics. *Fertil steril* 1992;57:1289-1293
 85. Kazama T.: Effect of experimental varicocele on rat Leydig cell function. *Nippon Hinyok Gak Zasshi* 1995;abstract 86:308-315
 86. Swerdloff R.S. and Walsh P.C.: Pituitary and gonadal hormones in patients with varicoceles. *Fertil Steril* 1975;26:1006-1012
 87. Hudson R.W., Peres-Marrero R.A. et al: Hormonal parameters of men with varicocele before and after varicocelectomy. *Fertil steril* 1985;43:905-909
 88. Su LM, Goldstein M and Schlegel PN: The effect of varicocelectomy on serum testosterone levels in infertile men with varicoceles. *J. Urol.* 17:257-261:1990
 89. Hudson RW and McKay DE: The gonadotropin release of men with varicoceles to gonadotropin-releasing hormone. *Fertil Steril* 1980;33:427-432
 90. Hadziselimovic F, Leibundgut B, Da Runga et al.: The value of testicular biopsy in patients with varicoceles. *J. Urol.* 1986; 135:707-710
 91. Hsu HS, Chang LS, Chen MT et al.: Decreased blood flow and defective energy metabolism in the varicocele bearing testes of rats. *Eur. Urol* 1994; 25: 71-75
 92. Hsu HS, Wei YH and Li AF: Defective mitochondrial oxidative phosphorylation in varicocele bearing testes. *Urology* 1995;46:545-549
 93. Shafik A. Venous tension patterns in cord veins. I in normal and varicocele individuals. *J.Urol* 1980;123:383-385
 94. Shafik A. Venous tension patterns in cord veins II after varicocele correction *J.Urol* 1983;129:749-751

95. Dahl Hvand Hendrick JF: A vascular mechanism for maintaining testicular temperature by counter-current exchange. *Surg Gynecol Obstet* 1959;108:697-705
96. Goldstein M and Eid JF: Elevation of testicular and scrotal skin surface temperature in men with varicoceles. *J. Urol* 1989;142:743-745
97. Fujisawa M, Yoshida S, Kojima K et al: Biochemical changes in testicular varicocele. *Arch Androl* 1989 ;22:149-159
98. Nishiyama H, Danno S, Kaneko Y et al: Decreased expression of cold-induced RNA-binding proteins (CIRP) in male germ cells at elevated temperature. *Am J Path.* 1998;152:289-296
99. Namiki M, Nakamura M, Okuyama A et al: Influence of temperature on the fonction of sertoli and leyding cells of human testes. *Fertil steril* 1987;47:475-480
100. Cameron DF and Snyder FE: The blood-testis barrier in men with varicocele : a Lanthanum tracer study. *Fertil Steril* 1980;34:255-258
101. Turner TT, Jones CE, Roddy MS: Experimental varicocele does not effect the blood-testis brier, epididymal electrolyte concentration or testicular blood gas concertration. *Biol Reprod.* 1987;36:926-932
102. Holland MK, Alvarez J.G and Storey BT. : Production of superoxide and activity superoxide dismutase in rabbit epididymal spermatozoa. *Biol. Reprod.* 1982; 27: 1109,1118
103. De Lamirande E and Gagnon C : Human sperm hiperactivation in whole sperm and its association with low superoxide scavening capacity i seminal plasma. *Fertil steril.* 1993, 59 . 1291-1295
104. Aitken RJ, Clarson JS : Cellular bais of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J.Reprod.Fertil* 1987;81:459-465
105. Weese DL, Peaster ML, Kyle KH et al.: Stimulated reactive oxygen species generation by spermatozoa of infertile men. *J. Urol.* 1993 ;149: 64-67
106. Lenzi A, Picardo M, Gandini L. Et al.: Lipids of the sperm plasma membrane ; from poliunsaturated fatty acids considered as markers of sperm function to

- possible scavenger. Hum rep. Update 1996;2:246-256
107. Turner TT, Brown KJ and Spann CL: Testicular intravascular volume and microvessel mitotic activity :effect of experimental varicocele. J. Androl. 1993;14:183-186
108. Hurt GS, Howards SS and Turner TT: Repair of experimental varicoceles in the rat. Long term effects on testicular blood flow and temperature and cauda epididymal sperm concentrations and motility. J. Androl. 1986;7:271-276
109. Li H, Dubocq F, Jiang Y et al.: Effect of surgically induced varicocele on testicular blood flow and sertoli cell function . Urology 1999;53: 1258-1262
110. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis : A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. Br. J. Cancer 26:239-245, 1972
111. Huckins C: the morphology and kinetics of spermatogonial degeneration in normal adult rats: an analysis using a simplified classification of germinal epithelium. Anat Rec 1998;abstract 190, 905-926
112. Lin WW, Lamb DJ, Wheeler TM et al.: Apoptotic frequency is increased in spermatogenic maturation arrest and hypospermatogenic states. J. Urol. 1997; 158: 1791-1793
113. Fujisawa M, Hiramine C, Tanaka H et al.: Decrease in apoptosis of germ cells in the testes of infertile men with varicocele. World J. Urol. 1999; 17: 296-300
114. Lue YH, Sinha-Hikim AP, Swerdloff RS et al.: Single exposure to heat induces stage –specific germ cell apoptosis in rats : role of intratesticular testosterone on stage specificity. Endocrinology 1999;140:1709-1717
115. Tapanainen JS, Tilly JL, Vihko KK et al.: Hormonal control of apoptotic cell death in the testis :gonadotropins and androgens as testicular cell survival factors. Metab. Endocrinol. 1993;7:643-650
116. Kleiber EL, Broverman DM, Pokoly TB et al.: Interrelationships of cigarette smoking, testicular varicoceles and seminal fluid indexes. Fertil Steril. 1987; 47:481-486
117. Ku WW, Wine RN, Chae BY et al.: Spermatoocyte toxicity of 2-methoxyethanol in rats and guinea pigs:evidence for the induction of

- apoptosis. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1995;abstract 134:100-110
118. Li LH, Wine RN and Chapin RE: 2-Methoxyacetic acid induced spermatocyte apoptosis in human and rat testis: an in vitro comparison. *J Androl.* 1996;17:538-549
119. World Health Organization: Comparison among different methods for the diagnosis of varicocele. *fertil. Steril.* 43:575:1985
120. Trum JW, Gubler FM, Laan R et al.: The value of palpation, varicoscreen contact thermography and colour doppler ultrasound in the diagnosis of varicocele. *human Reprod.* 11 (6) : 1232-1235:1996
121. Sigman M, Jarow JP: Ipsilateral testicular hypertrophy is associated with decreased sperm counts in infertile men with varicoceles. *J. Urol* 158 (2): 605-607:1997
122. Eskew LA, Watson NE, Wolfman N, Bechold R et al: Ultrasonographic diagnosis varicoceles. *Fertil steril* 60:693: 1993
123. Kondoh N, Megura N, Masumiya K, Namiki M et al.: Significance of subclinical varicocele detected by scrotal sonography in male infertility. A preliminary report. *J. Urol* 150:1158:1993
124. Petros JA, Andriole GL, Middleton WD, and Picus DA: Correlation of testicular color doppler ultrasonography, physical examination and venography in the detection of left varicoceles in men with infertility. *J. Urol.* 45: 789-92:1991
125. Yamaguchi M, Sakatoku J, Takahara H: The application of intrascrotal deep body temperature measurement for the noninvasive diagnosis of varicoceles. *Fertil. Steril* 52:295-301:1989
126. Nieschlag E, Hertle E, Fishedick A, Behre HM: Treatment of varicocele : counselling as effective as occlusion of the vena spermatica. *Hum. Reprod.* 10:347-353:1995
127. Sharlip ID, Jarow JP, Belker AM et al: AUA Best practice policy: Report on varicocele and infertility 2001
128. Kim ED, Leibman BB, Grinblat DM, Lipshutz LI: Varicocele repair improves semen parameters in azospermic men with spermatogenic failure. *J.*

- Urol. 162:737-740:1999
129. Goldstein M, Gilbert BR, Dicker AP et al: Microsurgical inguinal varicocelectomy with delivery of the testis : an artery and lymphatic sparing technique. J. Urol. 148: 1808-1811:1992
 130. Fretz PC, Sandlow JI: Varicocele ; current concepts in pathophysiology , diagnosis and treatment. Urol Clin. N Am. 29:921-937:2002
 131. Çayan S, Lee D, Black L, Reijo Pera RA, Turek PJ: Response to varicocelectomy in oligospermic men with and without defined genetic infertility. Urology 57:530-535:2001
 132. C Romeo, G.Santoro, R. Ientile et al: Nitric oxide production is increased in the spermatic veins of adolescents with left idiopathic varicocele. J. Pediatric Surg. 36: 389-393,2001
 133. Setchell BP, Maddoks S, Brooks DE et al: Anatomy, vasculature innervation and fluids of the male reproductive tract. In Knobil. The Physiology of Reproduction. 2nd edn. 1063-1175:1994
 134. Del Punta K, Charreau EH, Pignataro OP et al: Nitric oxide inhibits leydig cell steroidogenesis. Endocrinology 137:5337-43:1996
 135. Zini A, O'Bryan MK, Magid MS et al: Immunohistochemical localization of endothelial nitric oxide synthase in human testis , epididymis , nad vas defferens suggests a possible role for nitric oxide in spermatogenesis, sperm maturation and programmed cell death. Biol. Reprod 55:935-941,1996
 136. Lee NP, Cheng CY et al: Nitric oxide/nitric oxide synthetase, spermatogenesis and tight junction dynamics. Biol. Repord. 70: 267-76:2004
 137. Lissbrant E, Löfmark U, Collin O et al: is nitric oxide involved in the regulation of the rat testicular vasculature? Biol. Reprod 56:1221-7:1997
 138. Middendorf R, Mueller D, Wichers S et al.: Evidence for production and functional activity of nitric oxide in seminiferous tubules and blood vessels of the human testis. J. Clin Endocrinol Metab 82:4154-4161,1997
 139. Shiraishi K, Naito K: Nitric oxide produced in the testis involved in dilatation of the internal spermatic vein that compromises spermatogenesis in infertile

- men with varicocele spermatogenesis in infertile men with varicocele. *B.J.U.* 99:1086-90:2007
140. Santoro G, Romeo C, Impellizzeri P et al: Nitric oxide synthase patterns in normal and varicocele testis in adolescents. *B.J.U International* 88:967-973:2001
141. Mitropoulos D, Deliconstantinos G, Zervas A, Villiotou V, Dimopoulos C.: Nitric oxide synthase and xanthine oxidase activities in the spermatic vein of patients with varicocele: a potential role for nitric oxide and peroxynitrite in sperm dysfunction. *J. Urol.* 156:1592-8:1996
142. Ozbek E, Turkoz Y, Gokdeniz R, Davarci M.: Increased nitric oxide production in the spermatic vein of patients with varicocele. *Eur. Urol.* 37:172-7:2000
143. Turkyilmaz Z, Gulen Ş, Sönmez K et al: increased nitric oxide is accompanied by lipid oxidation in adolescent varicocele 27: 183-187:2004.