

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TESTİSTE OLUŞTURULAN İSKEMİ / REPERFÜZYON HASARI
ÜZERİNE ASTAKSANTİN'İN KORUYUCU ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EMBİYE ÇOLAK

TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. CENGİZ BAYÇU

MART 2014

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOĞİ EMBRİYOLOĞİ ANABİLİM DALI

TESTİSTE OLUŞTURULAN İSKEMİ / REPERFÜZYON HASARI
ÜZERİNE ASTAKSANTİN'İN KORUYUCU ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ


EMBİYE ÇOLAK


TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. CENGİZ BAYÇU


KABUL VE ONAY SAYFASI


Embiye ÇOLAK'ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Testiste Oluşturulan İskemi/Reperfüzyon Hasarı Üzerine Astaksantin'in Koruyucu Etkisi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.


Tarih 06/07/2014

Üye Prof. Dr. Cengiz BAYÇU 

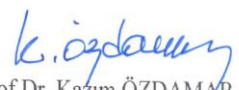
Üye Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK 

Üye Prof. Dr. Fatma Sultan KILIÇ 

Üye Prof. Dr. Emel ULUPINAR 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU DÖNMEZ 

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 11.03/2014 tarih ve 994./4632. sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Kazım ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

ÖZET

Testis torsiyonu dokuda iskemik hasara, detorsiyon ise reperfüzyon hasarına sebep olmaktadır. Torsiyondan sonra testisin normal pozisyonuna getirilmesi ise reperfüzyon hasarına sebep olmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda hem iskemi hemde iskemi/reperfüzyon (İ/R) sonucunda oluşan hasarlar üzerine bir antioksidan bir madde olan Astaksantin'in (ASTA) koruyucu etkisini incelemeyi amaçladık.

Çalışmamızda Spraque-Dawley cinsi, 42 adet, 250-300 gr ağırlığında erişkin erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 7 adet olmak üzere 6 gruba ayrıldı. Cerrahi girişim öncesi anestezi, i.m (intramusküler) yolla 70 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin uygulanarak sağlandı. Kontrol grubuna hiçbir cerrahi uygulama yapılmadı ve histolojik parametreleri belirlemek için kullanıldı. Torsiyon, sol testisin spermatik kordunun 720° saat yönünün tersine çevrilmesiyle oluşturuldu. Detorsiyon, 4 saat torsiyondan sonra testisin eski pozisyonuna getirilmesiyle sağlandı. İskemi grubunda sol testise, 4 saat torsiyon uygulanıp testisler çıkartıldı. İ/R grubunda sol testise, 4 saat torsiyon ve 2 saat detorsiyon uygulanıp testisler çıkartıldı. Antioksidan gruplarında, deneyden 3 gün önce gavaj yoluyla 100mg/kg ASTA verildi. Deney sonunda dokuda oluşan değişiklikler histolojik olarak ışık mikroskopta değerlendirildi. Ayrıca bilgisayar destekli görüntü analiz programıyla seminifer tübül çapı (STÇ) ölçümü, germ hücre ve Leydig hücre sayımı yapıldı.

İskemi ve İ/R gruplarındaki bulgularımızda tübüler atrofi, vakuolizasyon, bazal membran ayrılması, germ hücre hasarı ve sayısında azalma, interstisyel alanda ayrılma ve damar konjesyonu gözlemlendi. Sonuçlarımıza göre İ/R grubundaki hasarın iskemi grubundan daha fazla olduğu görüldü.

Sonuç olarak testiste oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine ASTA'nın koruyucu etkisi olduğu belirlendi.

Anahtar kelimeler : testis, torsiyon/detorsiyon, iskemi/reperfüzyon, astaksantin

SUMMARY

Testicular torsion causes ischemic injury while detorsion causes reperfusion injury. Reperfusion injury occurs when testicular torsion returns to its normal position. In our study we aimed to investigate that both ischemia and ischemia/reperfusion (I/R) injury and protective effect of Astaxantin on this process.

In the study 42 adult male Spraque-Dawley rats weighting 250-300 g were used. Experimental animals were equally divided into 6 groups including 7 rats. Rats were anesthetized intramuscularly with 70 mg/kg ketamine and 10 mg/kg xylazine. Any action was taken on control group. The control group was designed to collect normal histological parameters. Testicular torsion was created by rotating the left testis 720° in a counter clockwise direction for 4 h. Detorsion was created by repositioning testis after 4-hour-torsion. Ischemia group was applied to left testis for 4-hour-torsion and then testes were removed. I/R group was applied to the left testis for 4-hour-torsion and 2-hour-detorsion and testes were removed. In antioxidant groups (group 4,5,6) 100mg/kg ASTA was given orally for 3 days before starting the experiment. Deneý sonunda dokuda oluşan değişiklikler histolojik olarak ışık mikroskopta değerlendirildi ve ayrıca bilgisayar destekli görüntü analiz programıyla seminifer tbl apı (ST) lm, germ hücre ve Leydig hücre sayımı yapıldı. Testicular injury was examined histologically using light microscopy and seminiferous tubule diameter measurement, germ cell and Leydig cell counts were performed by using computed image analysis system.

In ischemic injury and I/R groups tubuler atrophy, vacuolization, basal membran separation, degeneration, loss of germ cell and widening of interstitial space were observed. Results indicated that I/R group was more severly injured than in ischemia group.

Consequently, results have shown that ischemia/ reperfusion injury was protected by using ASTA.

Keywords : testis, torsion/detorsion, ischemia/reperfusion, astaxanthin

İÇİNDEKİLER

ÖZET	v
SUMMARY	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	x
KISALTMALAR ve SİMGELER	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. TESTİS ANATOMİSİ.....	3
2.1.1. Testisin kan dolaşımı	4
2.1.2. Testisin innervasyonu	5
2.2. TESTİS EMBRİYOLOJİSİ	5
2.2.1. Gonadlar.....	5
2.2.2. Testis	7
2.3. TESTİS HİSTOLOJİSİ.....	8
2.3.1. Seminifer Tübüller.....	10
2.3.2. Sertoli hücreleri	11
2.3.2.1. Sertoli hücrelerinin fonksiyonları:	13
2.3.3. Spermatogenez	14
2.3.3.1. Spermatogonial faz	14
2.3.3.2. Spermatozit Fazı (Mayoz)	15
2.3.3.3. Spermatozit Fazı (Spermiyogenez).....	16
2.3.4. İnterstisyel Doku	19
2.4. TESTİS HİSTOFİZYOLOJİSİ.....	20
2.5. TESTİS TORSİYONU	22
2.5.1. Etyolojisi	22
2.5.2. Sıklık	23
2.5.3. Sınıflandırması.....	24
2.5.4. Klinik Bulgular	25
2.5.5. Tanı	25
2.5.6. Ayırıcı tanı.....	26
2.5.7. Tedavi.....	26

2.5.8.	Karşı Taraf Testisin Durumu	27
2.5.9.	İskemi Reperfüzyon	27
2.5.9.1.	İskemi ve Reperfüzyon Hasarı.....	28
2.5.9.2.	Serbest Radikaller	29
2.5.10.	Antioksidan Mekanizma	29
2.6.	KAROTENOİDLER.....	30
2.7.	ASTAKSANTİN	31
2.7.1.	Astaksantin'in Biyosentezi	32
2.7.2.	Astaksantin'in Etki Mekanizması	33
2.7.3.	Astaksantin'in Faydaları	35
3.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	37
3.1.	Deney Hayvanları:.....	37
3.2.	Kimyasallar:	37
3.3.	Deney Grupları:	37
3.4.	Cerrahi İşlemler:.....	39
3.5.	Histolojik Yöntem:	44
3.5.1.	Işık Mikroskobik İncelemeler İçin Dokuların Hazırlanması	44
3.5.1.1.	Bouin fiksatifinin hazırlanışı:	44
	Pikrik asitin hazırlanışı:	44
3.5.2.1.	PAS+ H boyasının hazırlanışı:.....	46
3.5.2.	Tübül çapı ölçümü	47
3.5.3.	Germ hücresi ve Leydig hücresi sayımı	48
3.6.	İstatistiksel Analiz:	48
4.	BULGULAR:.....	49
4.1.	Işık Mikroskobik Bulgular	49
	F- ASTA grubu: Kontrol grubuna benzer seminifer tübüller.	51
4.2.	İstatistiksel Bulgular	57
4.2.1.	Seminifer tübül çapı ölçümü.....	57
4.2.2.	Germ Hücre Sayımı Sonuçları.....	60
4.2.3.	Leydig Hücre Sayımı Sonuçları.....	63
5.	TARTIŞMA.....	66
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	71

KAYNAKLAR DİZİNİ	72
ÖZGEÇMİŞ.....	81

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1 : Serbest radikaller ve diğler reaktif oksijen bileşikler	29
Tablo 2. Doku takip yöntemine ait süreler	44
Tablo 3. H-E boyama yöntemine ait uygulama süreleri	45
Tablo 4. PAS+H boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri	46
Tablo 5: Kontrol, İskemi, İ/R, ASTA+ İskemi, ASTA+İ/R ve ASTA grubunu oluşturan sıçanların tübül çapı ölçümü yönünden Kruskal- Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks analizi sonuçları.	57
Tablo 6: Kontrol, İskemi, İ/R, ASTA+ İskemi, ASTA+İ/R ve ASTA grupları arasında tübül çapı ölçümü yönünden Tukey testi sonuçları.	59
Tablo 7. Kontrol, İskemi, İ/R, ASTA+ İskemi, ASTA+İ/R ve ASTA grubunu oluşturan sıçanların germ hücre sayımı yönünden Kruskal- Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks analizi sonuçları.	60
Tablo 8. Kontrol, İskemi, İ/R, ASTA+ İskemi, ASTA+İ/R ve ASTA grupları arasında germ hücre hasarı sayımı Tukey testi sonuçları.	62
Tablo 9. Kontrol, İskemi, İ/R, ASTA+ İskemi, ASTA+İ/R ve ASTA grubunu oluşturan sıçanların Leydig hücre sayımı yönünden Kruskal- Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks analizi sonuçları.	64
Tablo 10. Kontrol, İskemi, İ/R, ASTA+ İskemi, ASTA+İ/R ve ASTA grupları arasında Leydig hücre sayımı yönünden Tukey testi sonuçları.	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Testisin Anatomik Görünüşü	3
Şekil 2. Gonadların gelişimi	6
Şekil 3. Testisin anatomik görüntüsü	9
Şekil 4. Seminifer tübül ve interstisyel bağ dokusunun yapısı	11
Şekil 5. Spermatojenik seri hücreleri, sertoli hücreleri ve kan-testis bariyeri	13
Şekil 6. Spermatojenenezin şeması	16
Şekil 7. Spermiojenenezin şeması	19
Şekil 8. Testis torsiyonunun sınıflandırılması	24
Şekil 9. Astaksantin Kimyasal Yapısı	31
Şekil 10. Astaksantin'in biyosentezi	33
Şekil 11. Astaksantin'in hücre zarındaki durumu	34
Şekil 12. Cerrahi işlemler	40
Şekil 13. Cerrahi işlemler	41
Şekil 14. Cerrahi işlemler	42
Şekil 15. Cerrahi işlemler	43
Şekil 16. Deney gruplarının ışık mikroskopik görüntüleri	51
Şekil 17. Deney gruplarının ışık mikroskopik görüntüleri	52
Şekil 18. Deney gruplarının ışık mikroskopik görüntüleri	53
Şekil 19. Deney gruplarının ışık mikroskopik görüntüleri	54
Şekil 20. Deney gruplarının ışık mikroskopik görüntüleri	55
Şekil 21. Deney gruplarının ışık mikroskopik görüntüleri	56
Şekil 22. Tübül çapı ölçümü görüntüsü	57
Şekil 23. Testis tübül çapı ölçümü sonuçları	58
Şekil 24. Germ hücre sayımı görüntüleri	60
Şekil 25. Germ hücre sayımı sonuçları	61
Şekil 26. Leydig hücre sayımı görüntüleri	63
Şekil 27. Leydig hücre sayımı yönünden karşılaştırma sonuçları	64

KISALTMALAR ve SİMGELER

ABP	Androjen Bağlayıcı Protein
ASTA	Astaksantin
ATP	Adenozin Trifosfat
BKT	β -karoten ketolaz
cAMP	Döngüsel Adenozin Trifosfat
CAT	Katalaz
CH	karotenoid hidroksilaz
FSH	Folikülleri uyaran hormon
GPX	Glutasyon Peroksidaz
İ/R	İskemi/Reperfüzyon
LCYB	Likopen siklaz
LH	Lüteinleştirici Hormon
PDS	Fitoen desaturaz
PSY	Fitoen sentaz
T/D	Torsiyon-Detorsiyon
SOD	Superoksid Dismutaz
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
TICAM	Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi
TT	Testis Torsiyonu
ZDS	ζ - karoten desaturaz
i.m.	intramusküler

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Testis torsiyonu (TT), çocukluk ve gençlik çağındaki erkeklerde görülen ve ürolojik acil bir durum olarak tanımlanan akut skrotumun ana nedenlerinden biridir (12, 37, 85). TT, spermatik kordun kendi eksenini etrafında dönmesine bağlı olarak testis ve eklentilerinin kan akımının engellenmesi olarak tanımlanır (84). İnsidansı yaklaşık olarak 25 yaş altı erkeklerde 1/4000'dir (80, 85). Torsiyon iskemik hasar, detorsiyon ise reperfüzyon hasarı oluşturarak dokuda yapısal ve biyokimyasal bir takım değişikliklerin ortaya çıkmasına neden olur (15).

TT'de önce venöz dönüş bozulur. Bunu takiben ödem, hemoraji ve sonra arteriyel obstrüksiyon gelişir. Kan akımının azalması, tıpkı diğer dokularda olduğu gibi testiste de hipoksiye neden olur (58, 98). Deneysel çalışmalarda testiküler iskemiye en duyarlı olan hücrelerin spermatogonia ve spermatozoidler olmak üzere germ hücreleri olduğu gösterilmiştir (15, 24, 98). İskemi/reperfüzyon (İ/R) sonrası oluşan testiküler hasardan reperfüzyon sırasında üretilen serbest oksijen radikalleri (SOR) sorumludur. SOR, organizmada dokunun yapı elemanlarını bozarak zararlı etkilere yol açabilir (15). Çeşitli antioksidan ajanların kullanılmasıyla (vitamin E, allopurinol, melatonin, sindenafil sitrat, N-asetilsistein gibi) SOR'un azaltılabildiği gösterilmiştir (2, 18, 54, 87).

İskemik dokularda canlılığı korumak için temel prensip, reperfüzyonun sağlanmasıdır. Bu nedenle testis torsiyonlu olgulara zaman geçirmeden müdahale edilmelidir. Ancak, testis torsiyonunun düzeltilmesinden sonra bu kez reperfüzyon ile oluşan hasarlanmanın eklendiğine dikkat çekilmiştir (15, 29). Reperfüzyon hasarı nötrofil infiltrasyonu ve SOR'un artışıyla yakından ilişkili bulunmuştur. Oluşan SOR'un mitokondri ve hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu yoluyla membran geçirgenliğinde artışa veya membran bütünlüğünde bozulmaya, protein denatürasyonuna ve DNA hasarına yol açtığı, sonuçta iskemi nedeniyle oluşan germ hücre hasarının daha da artmasına neden olduğu belirlenmiştir (17, 24).

Karotenoidlerin keton ailesinden olan astaksantin (ASTA) özellikle deniz canlılarının (karides, yengec, istakoz ve balık yumurtaları) kabuklarında doğal olarak bulunan kırmızı renkli bir pigment olup, hücre membran yapısının korunmasında etkili bir mekanizmaya sahip olduğu bildirilmektedir (36, 100, 101).

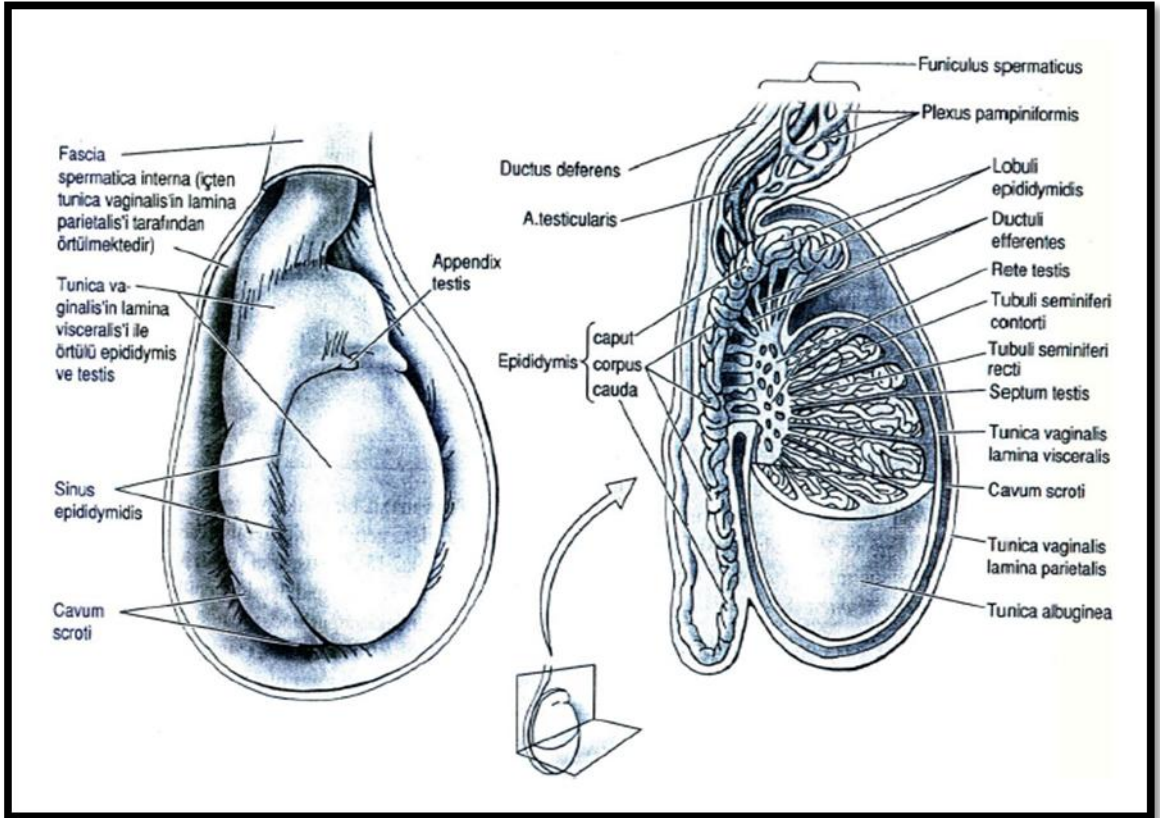
ASTA, diğer karotenoidlere göre ısıya karşı dayanıklı olup, renk değişikliği göstermemektedir. Diğer antioksidanlara kıyasla yapısında oksijen içermesi ve lipofilik olması nedeniyle kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçebilmektedir ve santral sinir sistemi ile beyin hücrelerini koruyucu etki gösterdiği bildirilmektedir (99). ASTA'nın antioksidan aktivitesinin E vitamininden 550 kat, C vitamininden 6000 kat, beta karotenden 10 kat daha güçlü olduğu bulunmuştur (61, 70).

Torsiyonun, dolayısıyla iskeminin testislerde çok yıkıcı olduğu bilinmektedir. Birçok araştırmacı hayati önem taşıyan bu durumu ekonomik açıdan maliyeti daha az olan uygulama ve terapötik ajanlarla gidermeye çalışmıştır. Bu konuda her geçen gün çalışma sayısı artmaktadır. Bizde planladığımız bu çalışmada TT ve sonucunda oluşan testis hasarı üzerine etkinliği henüz bilinmeyen bir antioksidan olan ASTA'nın etkilerini araştırmayı amaçladık. ASTA, maliyeti düşük ve ulaşılması kolay bir kimyasal ajan olması, iskemik durumun giderilmesinde alternatif bir tedavi yöntemi olacağını düşündürmektedir. Bu nedenle bizde çalışmamızda TT sonucu oluşan testis hasarına karşı ASTA'nın koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TESTİS ANATOMİSİ

Testisler, skrotum içerisine yerleşmiş, sperm üretmekle görevli, yaklaşık 4-5 cm uzunluğunda, 2,5 cm eninde, 3 cm kalınlığında ve 10-14 g ağırlığında oval şekilli bir çift organdır. Skrotum içinde duruşları vertikal olmayıp, organın uzun eksenini yukarıdan aşağı ve önden arkaya eğiktir. Genellikle sol testis sağ testise karşın daha aşağı yerleşimlidir (5, 26, 88, 108).



Şekil 1. Testisin Anatomik Görünüşü (43)

Testisler, funikulus spermaticus aracılığıyla skrotum'da asılıdır. Funikulus spermaticusda, duktus deferens, a. duktus deferentis, plexus duktus deferentis, a.

testikularis, plexus testikularis, plexus pampiniformis, a. kremasterika, n. genitofemoralisin ramus genitalisi ve lenf damarları bulunur. Kıvrımlı bir deri kesesi olan skrotumun iç yüzü, septum skroti (skrotal septum) ile ikiye ayrılır.

Her bir testisin fascia medialis (iç yan yüz) ve fascia lateralis (dış yan yüz) olarak iki yüzü; margo anterior (ön kenar) ve margo posterior (arka kenar) olarak iki kenarı, ekstremite superior (üst uç) ve ekstremite inferior (alt uç) olmak üzere iki ucu vardır (5, 26, 88, 108).

2.1.1. Testisin kan dolaşımı

İnsan testis parankimi dakikada 100 mg doku için yaklaşık 9 ml kan ile beslenir. Testisin ana arteri, abdominal aortada renal arterin hemen altından çıkan, testiküler arterdir. Ayrıca hipogastrik arterin dalları olan kremasterik ve deferenial arterler de testisin kanlanmasına yardımcı bulunur. Testiküler arter posterior bölgeden testis dokusuna girer ve mediastinumda birçok dala ayrılır. Testiküler arterler tunika albugineayı geçtikten sonra, dalları ön tarafa testis parankimi üzerinden transvers olarak geçecek şekilde, testis parankimi arka yüzünde aşağı doğru seyrederek. Testisin medial ve lateral bölgeleri, anterior ve inferior bölgelerine oranla daha az damar içermektedir.

Her iki testisin arka tarafına doğru ilerleyen küçük venler, testisin yüzeyi ve mediasten bölgesinden gelen küçük venler ile birleşir, daha sonra bu venöz yapıya vas deferens venleri de katılır ve plexus pampiniformis adı verilen venöz bir ağ oluşturur. Plexus pampiniformis spermatik kordun içinden yükselir ve inguinal kanaldan geçerek karın boşluğuna gelir. Sağda vena kava inferiora, solda ise renal vene dökülür .

Testis lenfası 4-8 damar halinde spermatik kord içinden geçerek paraaortik lenf nodlarına dökülür.

Lenf damarları, yüzeysel ve derin olarak iki grupta toplanır. Yüzeysel lenf damarları tunika vajinalisin yüzeyinde, derin lenf damarları ise testis ve epididimisin içinde seyrederek ve funikulus spermatikus ile birlikte karın boşluğuna girerler. Sonuçta nodi aortiki lateralis ve nodi preaortikiye açılırlar (26, 72, 108).

2.1.2. Testisin innervasyonu

Testis otonom sinirlerle innerve edilir. Sempatik ve parasempatik lifler pleksus testikularisi oluştururlar. Sempatik lifleri medulla spinalisin torakal 10-12 segmentlerinden, parasempatik lifleri nervus vagustan orjin alır. Pleksus testikularise ait sinirler testikuler arter ve deferential arter etrafında testise ulaşır (26, 72, 108).

2.2. TESTİS EMBRİYOLOJİSİ

2.2.1. Gonadlar

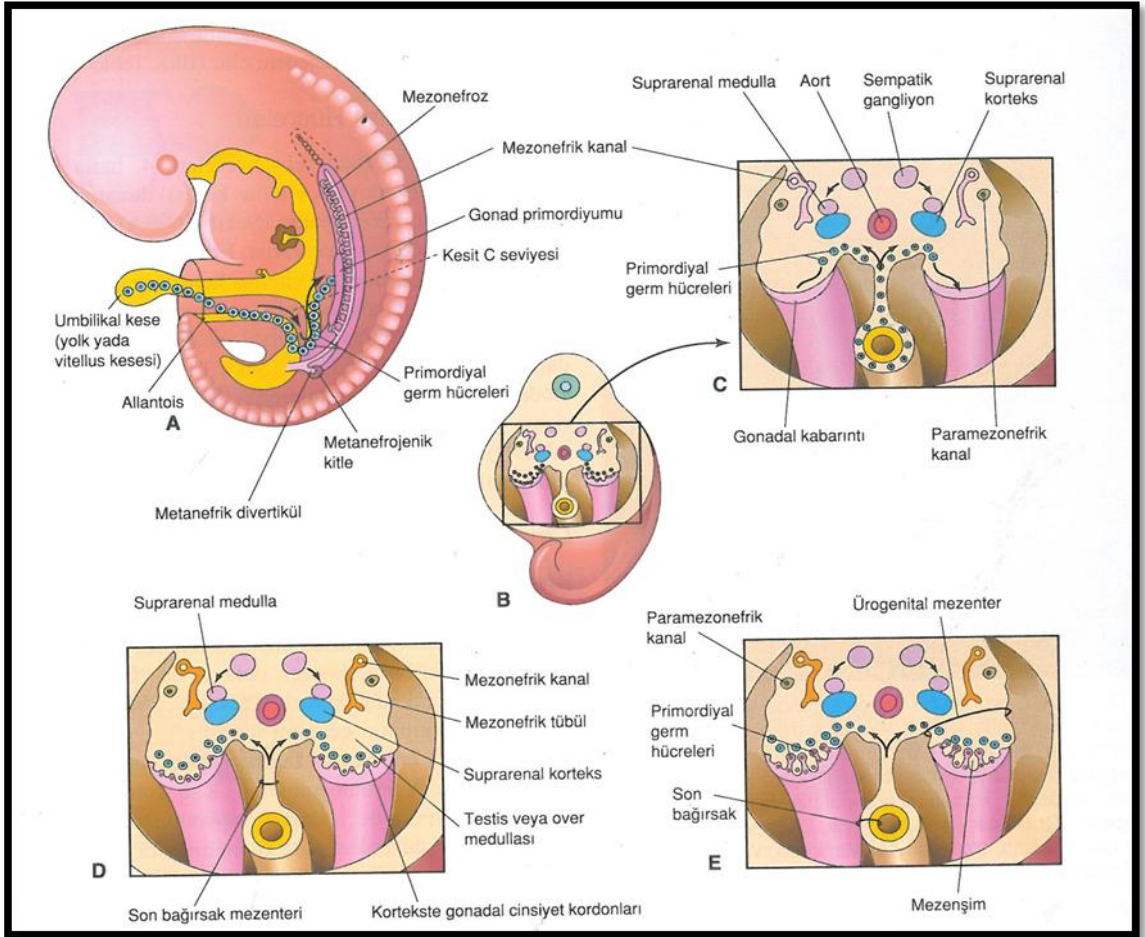
Embriyonun cinsiyeti, genetik açıdan daha fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmasına rağmen, gelişimin 7. haftasına kadar gonadlar erkeğe veya dişiye ait morfolojik özelliklere sahip değildirler (38, 86).

Gonadlar (testisler ve overler) üç kaynaktan köken alırlar:

- Söloom epiteli (mezotel)
- Altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu)
- Primordiyal germ hücreleri (38, 67) (Şekil 2).

Gonadlar, bir çift uzunlamasına genital veya gonadal sırt halinde ortaya çıkarlar. Epitel proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşmuşlardır. Gelişimin 6. haftasına kadar genital sırtlar içinde germ hücreleri yoktur (Şekil 2).

Primordiyal germ hücreleri, epiblasttan köken alır, primitif çizgi boyunca göç eder ve üçüncü haftada yolk kesesinin allontoise yakın duvarındaki endoderm hücrelerinin arasına yerleşirler. 4. haftada ameboid hareketlerle sonbarsağın mezenterinin dorsali boyunca ilerleyerek 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşır, 6. haftada da genital sırtları işgal ederler (Şekil 2). Bu hücreler genital sırtlara ulaşamadıkları takdirde gonadlar gelişemez. Primordiyal germ hücrelerinin gonadların over veya testise farklılaşmalarını üzerinde indükleyici etkileri vardır (38, 40, 51, 86, 96).



Şekil 2. Gonadların gelişimi

A- 5 haftalık embriyoda, primordiyal germ hücrelerinin vitellüs kesesi duvarından embriyo içerisine göçü izlenmektedir. **B-** 5 haftalık embriyo kaudalinin üç boyutlu çiziminde, gonadal kabarıntıların lokalizasyonu ve kapsamı görülmüştür. **C-** Transvers kesitte suprarenal bezlerin primordiyumları, gonadal kabarıntılar ve primordiyal germ hücrelerinin gelişen gonadlara göçü izlenmektedir. **D-** 6 haftalık embriyonun transvers kesitinde gonadal kordonlar görülmektedir. **E-** Farklanmamış gonadlar ve paramezonefrik kanallar izlenmektedir (67).

Primordiyal germ hücrelerinin primitif gonadlara ulaşmalarından hemen önce ve ulaştıkları sırada, genital sırttaki epitel hücreleri proliferasyon olarak altlarındaki mezenşimin içine gömülürler. Bunlar burada primitif cinsiyet kordonları denilen düzensiz kordonları oluştururlar. Hem erkek hem de dişi embriyolarda bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdır ve bu dönemde erkek veya dişi gonadlarının birbirinden ayırt edilebilmesi mümkün değildir. Bu evredeki gonada farklanmamış gonad denir (Şekil 2).

Farklanmamış gonad şimdi, dışta yer alan bir korteks ve içte yer alan bir medulladan oluşmaktadır. Eğer embriyo XX seks kromozom kompleksine sahip ise farklanmamış gonadın korteksi overe diferensiyasyon olur, medullası geriler. Embriyo XY seks kromozom kompleksini içermekteyse, medulla testise farklanır, korteks bir takım kalıntılar dışında geriler, dejenerasyon olur (38, 40, 51, 67, 86, 96).

2.2.2. Testis

Embriyo genetik olarak erkekse, primordiyal germ hücreleri XY kromozom kompleksine sahiptir. Testis belirleyici faktörü kodlayan Y kromozomu üzerindeki SRY geninin etkisiyle, primitif cinsiyet kordonları testis veya meduller kordonları oluşturmak üzere çoğalmaya devam edip medullanın derinliklerine doğru ilerler. Bu kordonlar bezin hilusuna doğru daha sonra rete testis tübüllerini oluşturacak olan minik hücre sıraları halinde bir ağ oluşturacak şekilde dağılırlar. Gelişimin daha ileri evrelerinde tunika albuginea denilen yoğun fibröz bir bağ dokusu tabakası testis kordonlarını yüzey epitelinden ayırır.

4. ayda testis kordonları at nalı şeklini alır ve bu nalın açık uçları rete testisle devam eder. Bu durumda testis kordonları artık primitif germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden gelişen sertoli destek hücrelerinden meydana gelir.

Gonadal sırtın orjinal mezenşiminden köken alan Leydig hücreleri testis kordonlarının arasında bulunur ve bu kordonların farklılaşmaya başlamasından hemen sonra gelişmeye başlarlar. Gestasyonun 8. haftasında, Leydig hücreleri testosteron üretmeye başlarlar. Testisler işte bundan sonra genital kanal ve dış genital organların cinsiyetlerini etkileyecek hale gelirler.

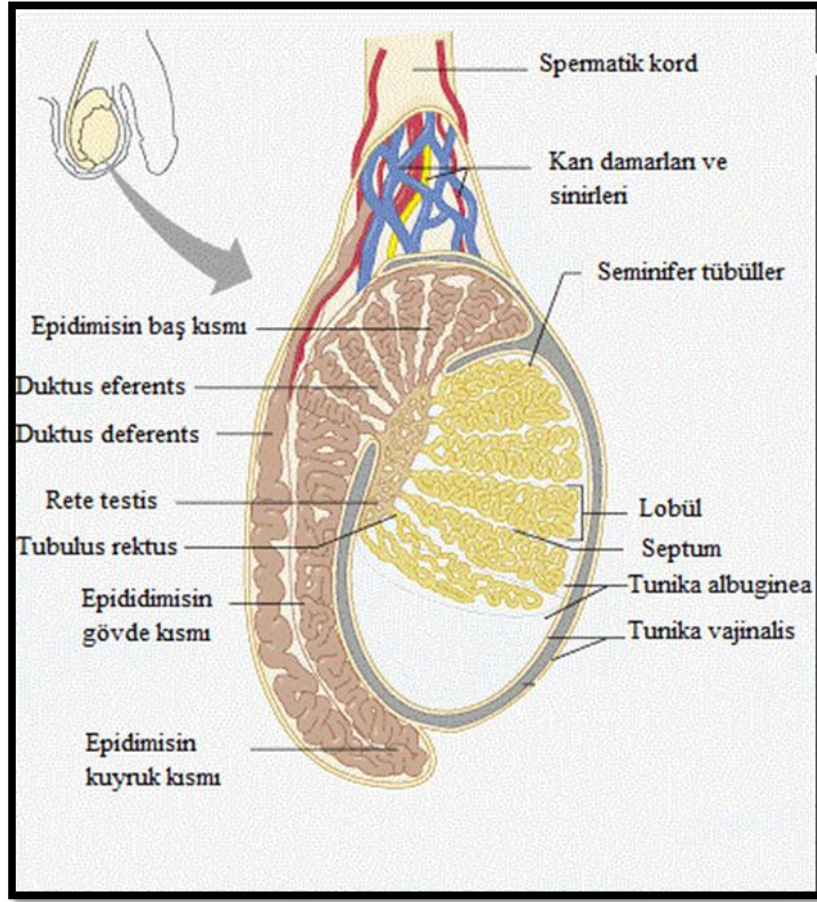
Puberteye kadar solid halde kalan testis kordonları pubertede lümenleri açılarak seminifer tübüllere dönüşürler. Seminifer tübüller kanalize olur olmaz rete testis tübülleriyle birleşir ve duktuli eferenteslere girerler. Eferent duktuslar mezonefrik sisteme ait boşaltım tübüllerinin geride kalmış parçalarıdır. Bu duktuslar rete testisle, daha sonra duktus deferens adını alacak olan mezonefrik veya wolffian kanalları birbirine bağlarlar (38, 40, 67, 96).

2.3. TESTİS HİSTOLOJİSİ

Testisler, embriyolojik gelişim sırasında karın boşluğunun arka duvarında retroperitoneal olarak gelişirler. Fetüsün gelişmesi sırasında göç ederler ve skrotum içinde spermatik kordonların uçlarında asılı olarak bulunurlar. Skrotuma doğru gerçekleştirdikleri bu göç nedeniyle her bir testis kendisiyle birlikte peritonu, tunika vajinalis adı verilen seröz bir kese şeklinde skrotum içine sürükler. Tunika vajinalis dışta perietal, içte ise visseral bir tabakadan oluşur ve testisin ön ve yan kısımlarında tunika albugineayı örter (40, 50, 74) (Şekil 3).

Testisler karın boşluğunun dışında skrotum içinde yer alan çift organlardır. Bu yerleşimleri testislerin vücut ısısından 2°C-3°C derece düşük bir ısıda olmalarını sağlar. Normal spermatogenez için 34°C ile 35°C gereklidir (40, 53, 74).

Olgun testisin posterior yüzü epididimis ile ilişkilidir. Hem testis hem de epididimis skrotal kese içerisinde duktus deferens, spermatik arter, venöz ve lenfatik pleksusları içeren spermatik kordon ile asılıdır (53, 74) (Şekil 3).



Şekil 3. Testisin anatomik görüntüsü (46)

Testisler, tunika albuginea adı verilen yoğun bağ dokusundan oluşan kalın bir kapsül ile çevrilidir. Tunika albuginea testisin arka yüzünde, rete testisin bulunduğu yerde kalınlaşarak mediastinum testis adı verilen yapıyı oluşturur. Mediastinumdan testiküler kitleye doğru uzanan fibröz septumlar testis dokusunu yaklaşık 250 adet piramidal lobüle böler. Her lobülde gevşek bağ dokusu ile sarılı 1-4 adet seminifer tübül yer alır (Şekil 3). Bu bağ dokusu bol miktarda kan ve lenf damarı, sinirler ve Leydig hücreleri adı verilen interstisyel hücreleri içerir. Seminifer tübüller erkek üreme hücreleri olan spermatozoonları üretirken, Leydig hücreleri de testis androjenlerini salgılar (33, 40, 50, 53, 74).

2.3.1. Seminifer Tübüller

Spermatozoonlar seminifer tübüllerde üretilir ve erişkindeki yapım hızı günde yaklaşık 2×10^8 'dir. Her testiste yaklaşık 250-1000 seminifer tübül bulunur. Her seminifer tübül karmaşık yapıda çok katlı bir epitel ile döşeli olup, çapları yaklaşık 150-250 μm ve boyları 30-70 cm'dir (33, 40, 50, 74) (Şekil 4).

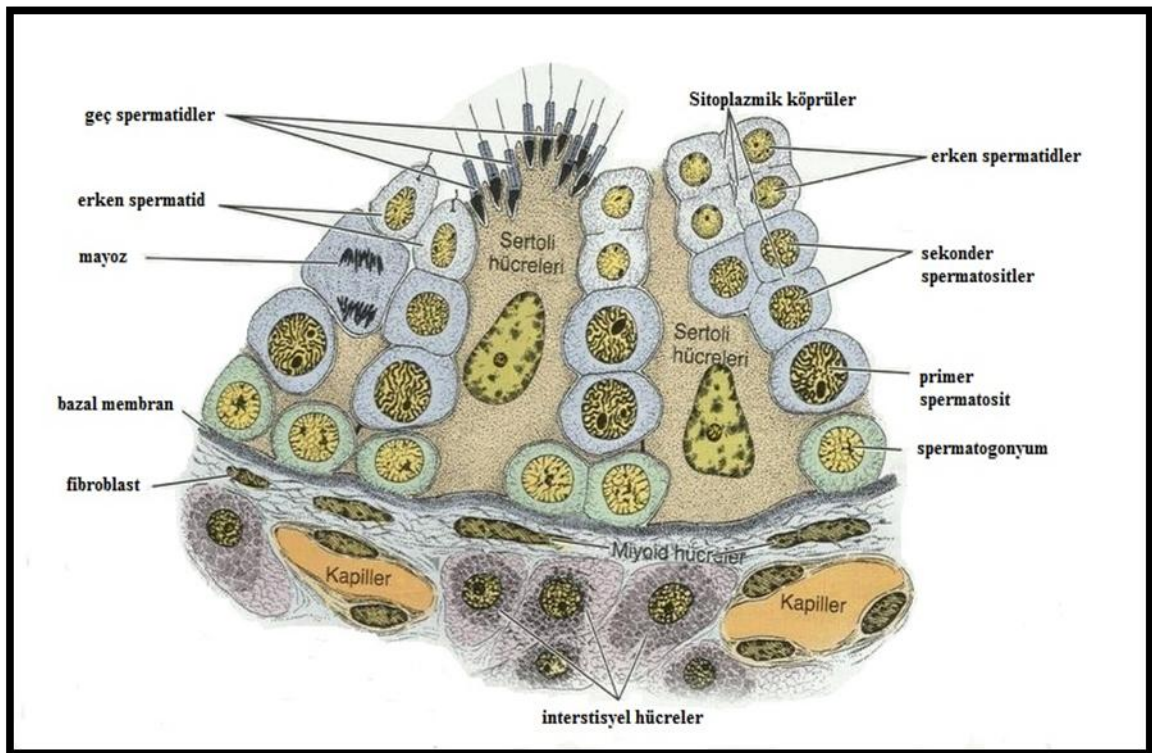
Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu yaklaşık 250 metredir. Tübüller kıvrımlıdır ve uçlarına doğru lümeni daralarak düz tübüller ya da tubuli rekti olarak anılan kısa segmentler halinde devam eden kangallar şeklinde uzanır. Bu düz tübüller, seminifer tübülleri rete testis denilen, epitel ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirente bağlar. Anastomoz yapan rete testis kanalları, yaklaşık 10-20 adet duktuli efferentes ile epididimin baş kısmına bağlanmaktadır (40, 50, 74) (Şekil 3).

Seminifer tübüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve karmaşık bir germinal yada seminifer epitelden oluşur. Seminifer tübülü saran fibröz tunika propria birkaç fibroblast katmanından oluşmuştur. Bazal laminaya yapışık olan en içteki katman, düz kas özellikleri de gösteren yassılaştırmış miyoid hücreler içerir (40, 74). Seminifer tübüllerin arasındaki boşluğun büyük bölümünü Leydig hücreleri doldurur (50, 74) (Şekil 4).

Seminifer epitelde iki tip hücre vardır :

1. Sertoli hücreleri (destek hücreleri)
2. Spermatogenez serisini oluşturan hücreler
 - ✓ Spermatogonyumlar
 - ✓ Spermatozoidler
 - ✓ Spermatozoidler
 - ✓ Spermatozoonlar

Spermatogenez serisinin hücreleri 4-8 tabaka halinde düzenlenmiştir. İşlevleri spermatozoonları üretmektir (40, 50, 74). Spermatozoon üretimi spermatogenez olarak adlandırılır. Bu süreç, mitoz ve mayoz hücre bölünmeleri içerir ve hücreler sonunda spermatozoonlara farklılaşır. Bu farklılaşma aşaması spermiyogenez olarak adlandırılır (50, 74).



Şekil 4. Seminifer tübül ve interstisyel bağ dokusunun yapısı (50)

2.3.2. Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri puberteye kadar seminifer epitelyumun dominant hücre tipidir. Puberteden sonra, seminifer tübülleri döşeyen hücrelerin yaklaşık %10'unu oluşturur. Daha ileri yaştaki erkeklerde spermatogenik hücre popülasyonu düştüğü zaman, Sertoli hücreleri tekrar epitelin ana elemanı haline gelir.

Sertoli hücreleri, bazal laminadan seminifer tübül lümenine doğru uzanan prizmatik hücrelerdir. Tübüller arası boşluk ve seminifer tübül lümeni arasında köprü hücreler olarak görev yaparlar (Şekil 4, Şekil 5).

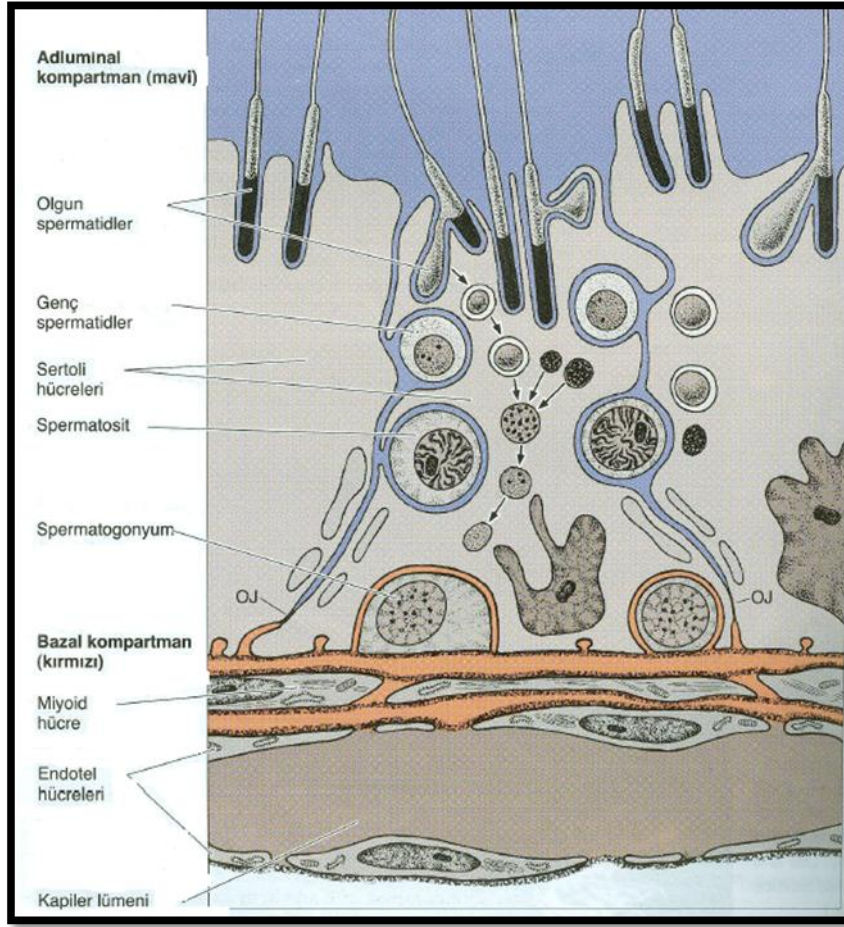
Sertoli hücrelerinin apikal ve lateral hücre membranlarının düzensiz sınırları vardır. Çünkü gelişmekte olan spermatogenik hücrelere kriptalar sağlayarak ev sahipliği yaparlar (40, 53, 74) (Şekil 4, Şekil 5).

Çekirdek olukludur ve heterokromatin kitleleri ile ilişkili geniş bir çekirdekçik içerir. Sitoplazma düz ve granüllü endoplazmik retikulum, mitokondriyonlar, lizozomlar, lipid damlacıkları, yaygın bir Golgi aygıtı ve zengin bir hücre iskeleti içerir (33, 40, 53).

Sertoli hücreleri, bazolateral bölgelerinde komşu Sertoli hücreleri ile okludens bağlantıları oluştururlar.

Bazolateral okludens bağlantıları:

- Seminifer epitelyumu bir bazal ve bir adluminal kompartmana bölerler.
- Gelişmekte olan spermatositleri ve spermatidleri otoimmün reaksiyonlardan koruyan kan-testis bariyeri olarak adlandırılan elemanları belirlerler (33, 40, 74) (Şekil 5).



Şekil 5. Spermatogenik seri hücreleri, sertoli hücreleri ve kan-testis bariyeri (50)

2.3.2.1. Sertoli hücrelerinin fonksiyonları:

- Gelişmekte olan spermatogenik hücreleri desteklemek, korumak ve beslemek.
- Spermiyogenezin sonunda spermatidler tarafından atılan rezidual (artık) cisimcikler olarak adlandırılan fazla hücre kısımlarını fagositoz ile elimine etmek.
- Olgun spermatidlerin aktin-araçlı kasılmalarla (spermiyasyon denilen bir süreç) seminifer tübül lümenine salınımını kolaylaştırmak.
- Seminifer tübül lümenine proteinler ve iyonlardan zengin bir sıvı salgılamak.

- Folikül uyaran hormon (FSH) uyarımıyla, Androjen bağlayıcı protein (ABP) sentezlemek. Bu protein, seminifer tübül içinde spermatogenez için gerekli olan testosteronun yoğunlaşmasını sağlar.
- Hipofiz bezinin ön lobundan FSH sentez ve salınmasını önleyen ; İnhibin ve uyaran ; Aktivin adı verilen peptidleri salgılamak.
- Anti-Müllerian (Müllerian inhibe edici) hormonu üretmek. Bu hormon embriyonik gelişim sürecinde, erkek fetusta Müller (Paramezonefrik) kanallarının gerilemesini sağlar (33, 40, 53, 74, 82)

2.3.3. Spermatogenez

Spermatogenez, mitoz ve mayoz bölünmelerini içeren spermatozoon üretim sürecidir. Spermatogenez üç ayrı faza ayrılmıştır:

- Spermatogonial faz
- Spermatozit fazı (mayoz)
- Spermatid fazı (spermiyogenez)

2.3.3.1. Spermatogonial faz

Spermatogonyum, yaklaşık 12 μm çapında, bazal laminanın hemen üstünde yer alan nispeten küçük bir hücredir. Cinsel olgunluk çağında spermatogonyum hücreleri mitoz bölünmeyle çoğalmaya başlar ve yeni hücreler oluşur (50). Spermatogonyumlar, bazal kompartmanda bazal lamina ile direkt ilişkide olan diploid spermatogenik hücrelerdir. Sertoli hücreleri arasındaki tıkaçıcı bağlantıların altında yer alırlar ve bu nedenle kan-testis bariyerinin dışında yer alırlar (40, 82) (Şekil 4, Şekil 5).

Spermatogonyumlar, spermatogonyal kök hücreden köken alırlar ve pubertede başlayan başarılı mitotik hücre bölünmeleri geçirirler.

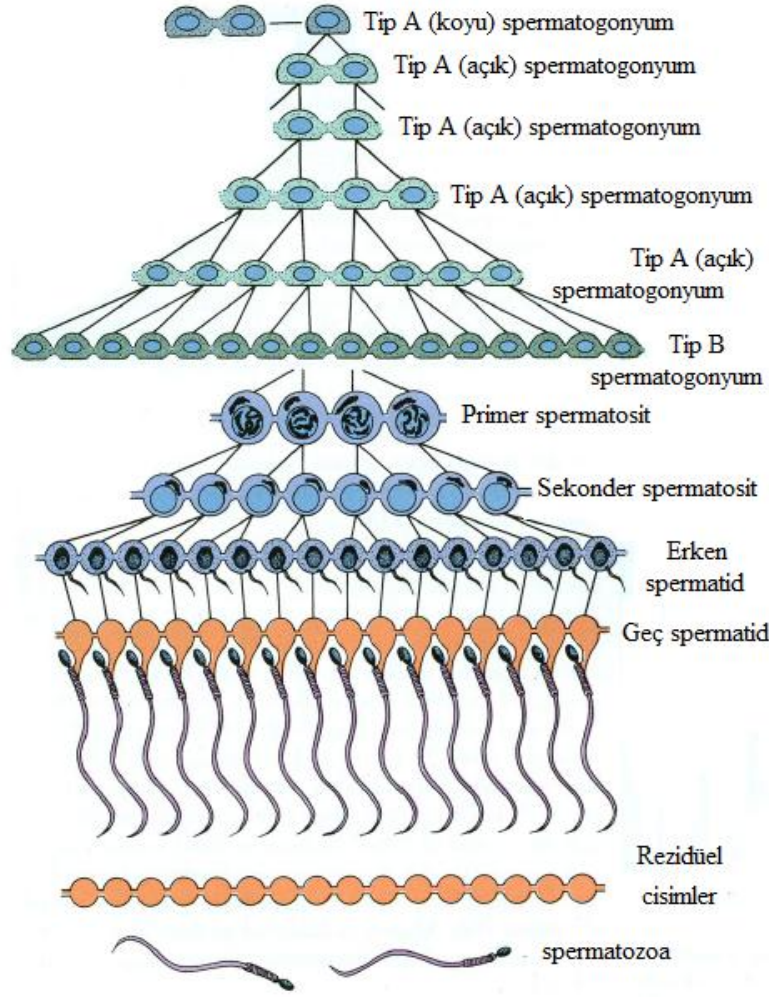
İki temel morfolojik spermatogonyal hücre tipi bulunmaktadır:

- Tip A Spermatogonyum
- Tip B Spermatogonyum (40, 53, 82) (Şekil 6)

2.3.3.2. Spermatisit Fazı (Mayoz)

B tipi spermatogonyumlar primer spermatisitlere farklılaşan öncül (progenitör) hücrelerdir. Primer spermatisitler 46 kromozom (44+XY) ve 4N DNA içerir (N haploid kromozom sayısını [insanlarda 23 kromozom] ya da bu kromozom takımındaki DNA miktarını gösterir). Oluşmalarından hemen sonra bu hücreler birinci mayoz bölünmenin profazına girerler. Bu bölünmenin profaz aşaması yaklaşık 22 gün sürdüğünden, kesitlerde görülen spermatisitlerin çoğu bu aşamada izlenecektir. Primer spermatisitler spermatogenik serinin en büyük hücreleridir ve çekirdeklerinde, sarmalanma sürecinin değişik aşamalarındaki kromozomların bulunması ile tanınırlar.

Birinci mayoz bölünmeden sonra sekonder spermatisitler olarak adlandırılan ve yalnızca 23 kromozom (22+XX veya 22+XY) içeren daha küçük hücreler oluşur. Kromozomların sayısındaki bu azalmaya (46'dan 23'e) her hücredeki DNA miktarının eksilmesi (4N'den 2N'ye) eşlik eder. Testis kesitlerinde sekonder spermatisitlerin gözlenmesi zordur. Çünkü bunlar interfazda çok kısa süre kalan ve çabucak ikinci mayoz bölünmeye giren kısa ömürlü hücrelerdir. Sekonder spermatisitlerin bölünmesi 23 kromozom içeren iki hücrenin, spermatidlerin oluşmasıyla sonuçlanır. Spermatisitlerde birinci ve ikinci mayoz bölünmeler arasında S fazı (DNA sentezi) görülmediği için, ikinci bölünmeden sonra her hücredeki DNA miktarı yarıya iner ve haploid (1N) hücreler meydana gelir (Şekil 6). Böylece, mayoz bölünme sürecinin sonunda haploid sayıda kromozom içeren hücreler oluşur. Döllenmeyle bunlar normal diploid sayıya dönerler (40, 50, 74, 82).



Şekil 6. Spermatogenezin şeması (82)

2.3.3.3. Spermatozoid Fazı (Spermiyogenez)

Spermiyogenez, spermatozoon üretiminin son aşaması ve spermatozoidlerin erkek DNA'sını ovuma aktarmak için son derece özelleşmiş hücreler olan spermatozoona dönüşme sürecidir. Bu süreçte hücre bölünmesi gerçekleşmez (40).

Spermatozoidler, küçük boyutları (7-8 μm çapta), yoğunlaşmış kromatin bölgeleri içeren nükleusları ile ayırt edilebilirler (40, 50). Haploid spermatozoidler seminifer tübül

lürmenine yakın adluminal kompartmanda yerleşmişlerdir. Spermatidler, Sertoli hücre sitoplazma kriptaları içinde gömülüdürler (40, 53, 74) (Şekil 5).

Spermatidin sitoplazması, çekirdeğin yakınında yer alan belirgin bir Golgi kompleksi, mitokondriyumlar, bir çift sentriyol, serbest ribozomlar ve düz endoplazmik retikulum tübüllerini içerir.

➤ **Spermiyogenez dört faza ayrılmaktadır :**

Golgi fazı:

Proakrozomal granüller olarak adlandırılan PAS-pozitif küçük granüller Golgi kompleksinde yoğunlaşırlar. Bu proakrozomal granüller glikoproteinden zengindir ve birleşerek zarla sınırlı bir akrozom vezikülüne dönüşürler. Bu faz sırasında vezikül, içerikleriyle beraber genişlemeye başlar. Akrozom vezikülü, gelişen spermin ön kutbunda yerleşiktir. Bu fazın sonlarına doğru sentriyol spermatidin ön kutbundan arka kutbuna göç eder (Şekil 7).

Kep fazı:

Akrozom kesesi büyüyerek çekirdek zarına tutunan bir kep oluşturur ve bu kep çekirdeğin çevresini sarmaya başlar. Bu arada çekirdekteki yoğunlaşma devam eder (Şekil 7).

Akrozomal Evre:

Akrozom vezikülü ve granülü, yoğunlaşan çekirdeğin ön yarısını kaplayacak şekilde yayılır ve bundan sonra akrozom adını alır (Şekil 7). Akrozom, hiyalüronidaz, nörominidaz, asit fosfataz ve etkisi tripsine benzer bir proteaz gibi bazı hidrolitik enzimler içerir. Bu yüzden akrozom, lizozomun özelleşmiş bir tipi gibidir. Bu

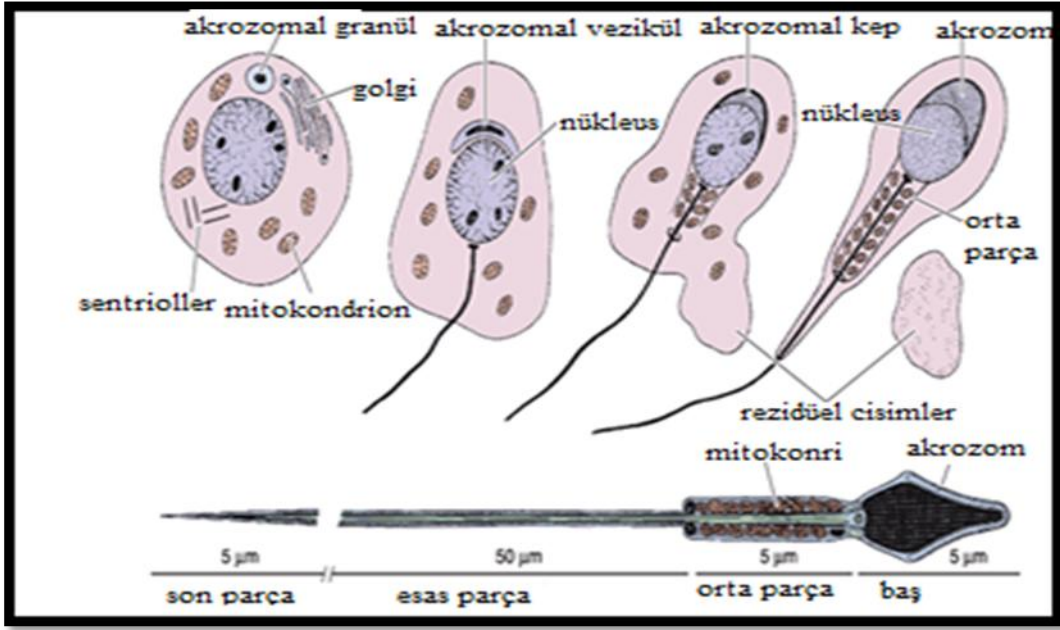
enzimlerin, oositleri çevreleyen korona radyata hücrelerini birbirinden ayırdığı ve zona pellusidayı sindirdiği bilinmektedir. Spermatozoonlar bir oositle karşılaştığında, akrozomun dış zarı birçok bölgede spermatozoonun plazma zarı ile kaynaşarak akrozom enzimlerinin hücre dışına boşalmasını sağlar. Bu işlem akrozom reaksiyonu olarak bilinir ve döllenmenin ilk basamaklarından biridir.

Spermiyogenezin bu evresinde, spermatid seminifer tübülün tabanına doğru yönelir ve aksonem lümenine doğru uzanır. Ayrıca, çekirdek uzar ve daha yoğun bir hale gelir. Aynı zamanda sentriyollerden biri gelişerek kamçıyı oluşturur. Mitokondriyumlar da kamçının proksimal kısmı etrafında toplanarak orta parça adı verilen kalınlaşmış bölgeyi oluşturur (Şekil 7). Bu bölge, spermatozoon hareketlerinin enerji kaynağını oluşturur.

Mitokondriyumların bu şekilde yerleşmesi, bu organellerin hücre hareketi ile ilgili ve enerji tüketimi yüksek olan bölgelerde yoğunlaşmasının başka bir örneğini oluşturur. Kamçı hareketi, mikrotübüller, ATP ve dinein denilen ATPaz aktivitesine sahip bir proteinin etkileşmesi sonucunda oluşur.

Olgunlaşma Evresi:

Bu son fazda spermatid türe has tipik şeklini alırken spermatidin çekirdeğinden spermiyumun başı, sentriyoller ile mitokondrilerden de kuyruk bölümü şekillenir. Spermatidin diğer organelleri artık cisimler şeklinde Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir ve spermiyumlar tübülün lümenine bırakılır. Olgunlaşma fazında spermiyumun son şeklinin kazanılması sağlanır. Spermiyumlar, metabolik ihtiyaçlarını karşılayabilmek için Sertoli hücreleri ile aralarındaki sitoplazmik köprüler varlığını sürdürmektedir (33, 40, 50, 74, 82) (Şekil 7).



Şekil 7. Spermiyogenezin şeması (50)

2.3.4. İnterstisyel Doku

Testisin interstisyel dokusu, androjen üretimi açısından önemlidir. Testislerde seminifer tübüller arasındaki boşlukların %25-30'unu gevşek bağ dokusu oluşturur. İnterstisyel doku içerisinde Leydig hücreleri, fibroblastlar, mast hücreleri, Leydig hücrelerine dönüşebilen farklılaşmamış mezenkimal kökenli hücreler, kılcıl damarlar, lenf damarları ve sinirler bulunur (40, 50, 74, 82) (Şekil 4).

Leydig hücreleri ergenlikte işlevsel olarak belirgin hale gelir. Leydig hücreleri, testisleri meydana getiren lobüller arasındaki bağ dokusu bölmelerinde bulunurlar (50, 74) (Şekil 4).

Leydig hücreleri, yuvarlak yada poligonol şekilli, merkezi bir nükleusa ve küçük lipid damlacıklarından zengin eozinofilik bir sitoplazmaya sahiptir (Şekil 4). Leydig hücreleri steroid salgılayan hücre özelliklerine sahiptirler. Leydig hücreleri testosteron hormonu üretimi ve salgılanmasından ve ikincil cinsiyet karakterlerinin gelişmesinden

sorumludur (33, 50, 74). Bu hücreler salgıladıkları testosteron hormonu ile spermatogenezi devam ettirir (53).

Leydig hücrelerinin hem işlevsellikleri hem de sayıları hormonal uyarılara bağlıdır. İnsana da hamilelik sırasında plasentadan üretilen gonadotropik hormon, anne kanından fetüse geçer ve androjenik hormonları üreten bol miktardaki fetal testiküler Leydig hücrelerini uyarır. Bu hormonların varlığı, erkek genital organlarının embriyonik farklılaşması için gereklidir. Embriyonik Leydig hücreleri hamileliğin 4. ayına kadar tamamen farklılaşmış olarak kalırlar ve sonra testosteron sentezinde bir azalmayla birlikte gerilerler. Daha sonra gebeliğin geri kalanı boyunca ve hipofizden salgılanan LH (Lüteinleştirici hormon) uyarısı altında testosteron sentezini yeniden yapmaya başladıkları puberte öncesi döneme kadar dinlenmede kalırlar (50, 74).

2.4. TESTİS HİSTOFİZYOLOJİSİ

Spermatogenezin düzenlenmesinde sıcaklık çok önemlidir. Spermatogenez, 37°C olan vücut içi sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda meydana gelir. Testis sıcaklığı yaklaşık olarak 35°C'dir. Zengin bir venöz ağ olan pleksus pampiniformis testis arterlerinin etrafını sarar. Bu ağlar testis sıcaklığının sürdürülmesinde önemlidir ve sıcaklığı dağıtmak için ters yönlü akımla sıcaklık değişimini sağlamaktadır. Soğuk günlerde, skrotum kası refleks olarak kasılarak testisleri yukarı doğru çeker, testislerin vücuda yaklaştırılması ile 2°C'lik farkın sürekliliği sağlanabilir. Bu şekilde, skrotum teorik olarak, testislere özgül soğutma mekanizması olarak görev yapar (32, 40, 82, 90).

Spermatogenez üzerinde endokrin faktörler de etkilidir.

- Testosteron: Leydig hücreleri tarafından salınır ve spermatogenik hücrelerin gelişmesi için gereklidir.
- FSH: Ön hipofizden salınır. Sertoli hücrelerini etkiler. Adenil siklaz yapımını, dögüsel adenozin trifosfat (cAMP) artışını uyarır. Aynı zamanda ABP'nin

sentez ve salgılanmasını harekete geçirir. Daha sonra ABP testosterona bağlanarak bu hormonu seminifer tübül lümenine taşır. Böylece spermatogenez uyarılmış olur. Bu uyarı olmazsa spermatidlerin sperme dönüşmesi gerçekleşmez.

- Östrojen: FSH üretimi sonucunda uyarılan Sertoli hücresinde testosterondan yapılmaktadır.
- LH: Leydig hücreleri üzerine etki ederek normal spermatogenezin gelişimi için gerekli olan testosteron yapımını uyarır. Hipofizden LH salgılanması negatif geri besleme ile düzenlenir. Testosteron sentezinin artması LH salınımını baskılar.
- İnhibin: Bu hormon Sertoli hücrelerinde yapılır ve FSH salınımını geri besleme mekanizmasıyla düzenler. İnhibin sürekli salınırsa FSH baskılanır. Üreme hücresi sayısı azalınca da FSH artar (30, 32, 37, 40, 59, 82, 93).

İnsanda günlük sperm üretimi testis başına 94,6 milyon olarak hesaplanmıştır. Spermier dişi üreme yollarında normalde mevcut olan sıvı akıntısına karşı hareket etme yeteneğine sahiptir ve bu özelliğine pozitif reotaksis denir. Spermier dişi üreme yollarında bazı kimyasal maddeler tarafından ise kendisine doğru çekilir ve bu özelliğe de pozitif kemotaksis denir (30, 32, 37, 40).

Kan ve seminifer tübüllerin iç bölgesi arasında bir bariyerin olması, testiküler sıvı içinde kandan birkaç maddenin bulunduğu anlamına gelmektedir. Kan-testis bariyerinden Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar sorumludurlar ve erkek germ hücreleri kandan gelecek zararlı maddelere karşı bu şekilde korunurlar (30, 32, 53).

Sertoli hücrelerinin farklılaşması sperme özgü proteinlerin ortaya çıkmasına yol açar. Cinsel olgunlaşmanın immünokompedansın gelişmesinden uzun bir süre sonra ortaya çıkması sebebiyle farklılaşan sperm hücreleri yabancı olarak tanınabilir ve germ hücrelerinin ölümüne sebep olabilecek bir bağışıklık yanıtını tetikleyebilirler. Kan-testis bariyeri, gelişen spermier ve bağışıklık sistemi arasındaki herhangi bir etkileşimi önler. Bu bariyer seminifer tübüllere immünoglobulinlerin geçmesini önler, bu da

serumlarında çok yüksek düzeylerde sperm antikorları bulunan hastalarda döllenenmedeki bozukluğu açıklar. Sertoli hücre bariyeri böylece seminifer epiteli herhangi bir otoimmün tepkiden de korumuş olur (53, 82).

2.5. TESTİS TORSİYONU

2.5.1. Etyolojisi

TT, ilk defa 1840'larda tanımlansa da 1907 yılında Rigby ve Hovard'ın yazdığı kitap sayesinde klinik anlamda önemli bir konuma gelmiştir. TT, testis hasarına ve subfertiliteye sebep olan önemli bir ürolojik acildir (37, 79). TT, testisin spermatik kordunun kendi eksenini etrafında dönmesi sonucu testis kan akımının bozulmasıdır (37, 84).

Puberte döneminde daha yaygın olmakla birlikte her yaşta gözlenebilir. Pubertede testesteron seviyesinin artışı ile testisin hızlı büyümesi predispozan bir faktör olarak düşünülebilir. Testis ve epididime olan mezenterik bağlantı geniş ise testis öne doğru düşmez ve daha dik pozisyonda kalır, sonuçta bükülme ihtimali düşmektedir. Bu özellik pubertede testisin hacminin beş altı kat artması nedeniyle pubertal testisin prepubertal döneme göre daha yüksek ihtimalle torsiyone olmasını açıklar (47, 69, 80).

Pubertede travma ya da aşırı egzersiz, torsiyonu başlatan bir etken olabilir (47, 77, 78). Yine kremaster veya dartos kaslarının kasılması da torsiyonu başlatabilir (92). Ayrıca soğuk havalarda (15°C'nin altında) torsiyon riskinin daha fazla olduğu; bu riskin yaz aylarında azaldığı bildirilmiştir (77, 92).

Diğer yandan, daha uzun bir spermatik korda sahip olan sol testiste torsiyon olasılığının sağ testise oranla daha fazla olduğu, inmemiş ve retraktıl testislerde torsiyon olasılığının arttığı saptanmıştır (31, 37).

Torsiyonun nedeni olarak, testisin skrotuma inişinin ve gubernakulumun skrotum duvarına fiksasyonunun tam olmaması sorumlu tutulmaktadır. Torsiyonun derecesi ve süresi arttıkça testiküler fonksiyonlarda bozulmaya yol açan, bir ürolojik acil problem olarak ortaya çıkar (49, 60, 69).

2.5.2. Sıklık

TT, sıklıkla adolesan dönemde ortaya çıkan, spermatik kordun torsiyonuna bağlı olarak testise giden kan akımındaki azalma ile birlikte gonad kaybına kadar gidebilen ürolojik acil bir klinik tablodur. Eğer bu acil durum özellikle ilk 4- 6 saatte tedavi edilmez ise tam arteriel oklüzyona bağlı testiküler nekroz meydana gelecektir (35, 47).

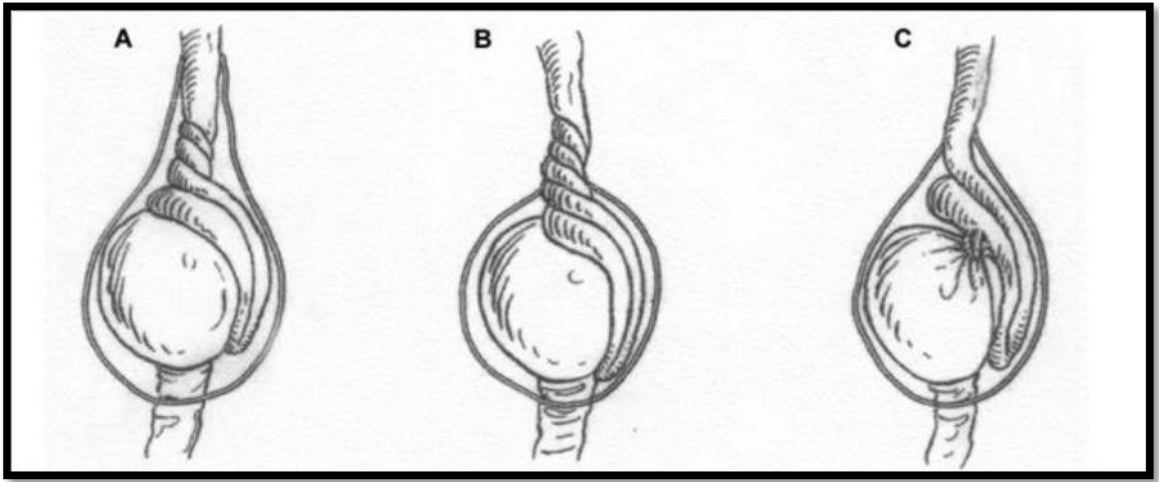
Testis ve eklerinde 25 yaşına kadar torsiyon görülme sıklığı 1/160 iken (106), sadece testis için bu oran 1/4000 dir (12). Her yaş grubunda görülebilmesine rağmen, özellikle pubertal dönem ve ilk 1 yaşta pik yapar. Olguların % 65'i pubertal dönemde ve 13 yaş grubundadır (13, 28). TT genellikle sol testiste görülürken, olguların %2 'sinde iki taraflıdır (10).

TT, neonatal dönemde de görülebilmektedir. İnsidans daha sonra yavaş yavaş azalır (89). Başarılı bir cerrahi girişime karşın bu hastaların % 40-60'ında testiküler atrofi ve infertilite geliştiği bildirilmiştir (58). Akut skrotal ağrısı olan adolesanların torsiyon olma sıklığı % 50-60 arasındadır (64). Her ne kadar bu patolojinin genelde çocuk ve adolesanlarda görüldüğü düşünülse de torsiyon gözlenen tüm olguların yaklaşık % 40'ı erişkin yaşlardadır bildirilmiştir (22).

2.5.3. Sınıflandırması

Testis torsiyonu başlıca 3 tip olarak sınıflandırılır. Bunlar;

- 1- İnvajinal Torsiyon
- 2- Extravajinal Torsiyonu
- 3- Testis eklerinin Torsiyonu (47, 69, 83) (Şekil 8)



Şekil 8. Testis torsiyonunun sınıflandırılması (69)

A- İnvajinal torsiyon

B- Extravajinal torsiyon

C- Testis eklerinin torsiyonu

1.İnvajinal torsiyon: Daha sık karşılaşılr (%90). İnvajinal torsiyon, tunika vaginalise göre spermatik kordun anormal yüksek yerleşimi ile karakterizedir. Tunika vaginalis spermatik korda olması gereken yerden daha yukarıdan tutunur, testisin tunika vaginalis içinde bir çan tokmağı şeklinde asılı durmasına yol açar. “Bell-clapper deformitesi” adı verilen bu durum torsiyon için temel neden kabul edilir ve spermatik kordun hareketlerle veya krameterik kontraksiyonlarla rahatça dönmesine neden olur. Pubertede testesteron seviyesinin artışı ile testisin hızlı büyümesi de predispozan bir faktör olabilir.

2.Ekstravajinal torsiyon: Daha az sıklıkla görülür (%10). Yenidoğan döneminde görülen torsiyon tipidir. Gonadal dokuların skrotumla olan bağlantılarının yokluğu yada yetersizliği sonucu oluştuğı sanılmaktadır.

3.Testis Eklerinin Torsiyonu (appendiks testis ve epididimis torsiyonları): Appendiks testis ve epididimislerin üst kısımlarında bulunan embriyolojik kalıntıların torsiyonu ile gelişen patolojileridir. Uzun appendikslerin torsiyonu sonrası gelişen enflamasyon kliniğı belirler. Genelde 16 yaş sonrası erkeklerde gözlenir (47, 69, 83).

Torsiyonun başlangıcında venöz tıkanıklık vardır. Bu durum, testiste ödeme ve ağrıya yol açar. Testisin tunikası elastik olmadığından, oluşan venöz konjesyon arteriyel dolaşımı bozar. Kan akımının azalması tıpkı diğer dokularda olduğu gibi testiste de hipoksiye neden olur. Deneysel çalışmalarda testiküler iskemiye en duyarlı olan hücrelerin başta spermatogonia ve spermatozoidler olmak üzere germ hücreleri olduğu gösterilmiştir. Testosteron sentezinden sorumlu olan Leydig hücreleri germ hücrelerine göre iskemiye daha dirençlidir (47, 69, 83).

2.5.4. Klinik Bulgular

Olgularda tipik olarak akut başlayan hemiskrotal ağrı görülür. Ağrıyla birlikte skrotal şişlik, bulantı-kusma, karın ağrısı da dikkat çeker (47, 77, 78). Torsiyone tarafta skrotum eritemli ve ödemlidir. Skrotum yukarı seviyededir. Kremasterik refleks kaybolabilir (81). Testis torsiyonu, genellikle aktivite ve travmayı takiben veya uyku esnasında gerçekleşebilir. Aslında, hastaların yaklaşık %50'sinde daha önce geçirilmiş ve kendiliğinden düzelmiş bir testiküler ağrı öyküsü mevcuttur (16, 71).

2.5.5. Tanı

Akut skrotum bulguları olan bir hastada mutlaka testis torsiyonu olabileceğı düşünülerek testisteki kan akımı Doppler ultrasonografi ve/veya Radyonükleid

görüntüleme yöntemleriyle tespit edilmelidir. Arteriyel akımın azalması torsiyon için tipiktir (65, 97).

Torsiyonun erken dönemlerinde epididimin normal lokalizasyonunda palpe edilmemesi tanıda yardımcı olur. Ancak saatler içinde gelişen ödem epididimin palpe edilmesine engel olur. Bu dönemde renkli doppler ultrasonografi tanıda yardımcıdır. Torsiyon varlığında doppler ile tipik olarak arteriyel kan akımının kaybolduğu gözlenir (3).

2.5.6. Ayırıcı tanı

Ayırıcı tanıda akut epididimit, akut orşit ve travma düşünülmelidir. Puberteden önce epididimit görülmesi oldukça nadirdir ve beraberinde pyüri vardır. Kabakulak orşiti de puberteden önce nadirdir ve sıklıkla parotit ile beraberdir. Epididim orşitte testis yukarı doğru kaldırılınca ağrı azalır (Prehn bulgusu negatifliği) (97). Strangüle inguinal herni, akut hidrosel, travmatik hematoma, idiyopatik skrotal ödem, skrotal yağ nekrozu, piyosel, testis tümörleri, testisin lösemik infiltrasyonu ayırıcı tanıda yer alan diğer hastalıklardır. Bununla birlikte tüm çocuklar torsiyon elimine edilinceye kadar testis torsiyonu varmış gibi tedavi edilmelidir (47).

2.5.7. Tedavi

Torsiyon tedavisinde ilk olarak manuel detorsiyon denenebilir. Detorsiyone olan testiste ağrı geçer, testis skrotum içine gelir ve kord gevşer ama yine de sonraki torsiyon ihtimalini önlemek için cerrahi ihtiyaç duyulabilir (52). Manuel detorsiyon başarısız olursa vakit kaybedilmeden cerrahi eksplorasyon yapılması önerilmektedir. Testise kan akımının başlaması için testis detorsiyone edilir. Testisin kan akımı hakkında, doppler ultrasonografi ile ameliyat anında bilgi edinilebilir (63).

10 yaşından küçük çocuklarda, spermatogenesis henüz oluşmadığından ve kan-testis bariyeri olmadığından dolayı iskemiye bağlı otoimmunizasyon riski düşüktür. Bu nedenle 10 yaşından küçük çocuklarda şüpheli testisler yerinde bırakılabilir. 10 yaşından büyük iskemik testisi olan çocuklarda ise orşiektomi önerilir (47).

Testis torsiyonu gelişip, ameliyat ile detorsiyone edilen testiste reperfüzyon sonrası hasarlanma devam etmektedir. Bu durumdan testiste oluşan “iskemik hasara” ek olarak testisin kan akımının ameliyat ile yeniden sağlanması sırasında oluşan “reperfüzyon hasarı” sorumlu tutulmaktadır (1).

2.5.8. Karşı Taraf Testisin Durumu

Spermatik kord strese maruz kaldığında karşı tarafta da sempatik sistem tarafından yönetilen refleks vazokonstriksiyon olmakta, bu da iskemik hasara neden olmaktadır. Torsiyon sonrasında aynı tarafta kan akımı %73 azalırken karşı tarafta da %43 azalmaktadır. Deneysel çalışmalarda torsiyon sonrasında karşı tarafta da kan akımı azalmakta ve torsiyon ortadan kalktığında karşı taraftaki kan akımı normale dönmektedir (55).

Sağlıklı tek testisin bile, fertilizasyon için sorun oluşturmadığı bilindiği halde, tek taraflı testis torsiyonu olgularının uzun süreli izlemlerinde, % 25 oranında infertilite ve % 90’a varan anormal sperm analiz sonuçları, tek taraflı testis torsiyonunun karşı testistede histolojik ve hemodinamik değişikliklere neden olduğunu desteklemiştir (12, 105).

2.5.9. İskemi Reperfüzyon

Testiküler torsiyon-detorsiyon (T/D) nedeniyle oluşan iskemi ve reperfüzyon testiküler hasara neden olmaktadır. İskemi sırasında oksijen miktarının metabolik

ihtiyaçlara oranla düşük seviyede olması, hücrel enerji depolarındaki azalma ve toksik metabolitlerin birikimine bağlı olarak germ hücre ölümü gerçekleşir (76).

Detorsiyon sonrasında gelişebilecek olan reperfüzyon hasarı; nötrofil infiltrasyonu ve SOR'un artışıyla yakın ilişkilidir. Oluşan SOR hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonuna, protein denatürasyonuna ve sonuçta DNA hasarına yol açar (24, 75).

İskemi doku hasarına sebep olurken şaşırtıcı bir şekilde reperfüzyon sonucu meydana gelen hasar daha fazladır. Oysa dokularda kan akımının tekrar başlaması sonucu iskemik dokuda bir iyileşme olması beklenir. İskemiye takiben gelişen reperfüzyon hasarının asidoz, sistemik şok ve subendotelyal hemorojik nekrozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (27).

2.5.9.1.İskemi ve Reperfüzyon Hasarı

İskemi, dokunun oksijen ve yaşam için gerekli diğer maddelere olan ihtiyacı ile sunumu arasındaki dengesizlik halidir. Ayrıca iskemi sürecinde, ortaya çıkan metabolitlerin uzaklaştırılmasında da sorun meydana gelir (37).

İskemi sonrasında dokuda dolaşımın yeniden başlaması, reperfüzyon olarak adlandırılmaktadır. İskemi sonucunda artan SOR kan akımı düzeldikten sonra reperfüzyon zedelenmesine yol açar. Reperfüzyon oluşmazsa, öldürücü iskemik zedelenme gelişir fakat toksik SOR oluşmaz. Reperfüzyon sırasında iskemik alanda toplanan nötrofil ve trombositlerin aktivasyonu, hücre içi Ca^{+2} birikimi ile mikrovasküler hasarın dokudaki zedelenmenin nedeni olduğu bilinmektedir. Toksik oksijen türevlerinin büyük ölçüde iskemik alanda toplanan polimorf nüveli lökositler tarafından yapıldığı düşünülmektedir.

İskemi sonrasında endotel ve hücre zarı fonksiyonlarının bozulmasıyla hem hücre içinde, hem de hücre dışında ödem görülür. Endotel hücrelerinde şişme ile damar

dışı boşluğa sızan sıvının neden olduğu bası sonucu kapiler damar lümeni daralır ve sonuçta reperfüzyon olsa da mikrosirkülasyonda ciddi yetersizlikler ortaya çıkar. Reperfüzyon ile iskemide bozulmuş mikrosirkülasyonun tam olarak düzeltilememesine “no-reflow olayı” denir. Dokuda ortaya çıkan ödemin yanısıra aktive olan nötrofil ve trombositlerin kapiler dolaşımında kalmaları bu tabloya katkıda bulunmaktadır (37).

2.5.9.2.Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngesinde tek, paylaşılmamış elektron taşıyan kimyasal ürünlerdir. Bu dengesiz durumun yarattığı enerji, organizmanın temel yapı taşları olan proteinler, karbohidratlar, lipidler ile inorganik kimyasallar gibi komşu moleküllerle olan tepkimeler sonucu açığa çıkar. Serbest radikaller, hücre membranları ve nükleik asitlerin yapısında yer alan anahtar moleküllerdir (37) (Tablo 1).

Tablo 1 : Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen bileşikler (37)

Serbest Radikaller	Radikal olmayan reaktif O ₂ bileşikleri	SOR etkisi sonucu oluşan radikaller
Superoksid (O ₂ ⁻)	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	Karbon merkezli radikaller (R ⁻)
Hidroksil (OH ⁻)	Singlet oksijen (¹ O ₂)	
Hidroperoksil (HO ₂ ⁻)	Hipokloröz asit (HOCl)	Peroksil / Karboksil (ROO ⁻)
Nitrik oksid (NO ⁻)	Peroksinitrit (ONOO ⁻)	Alkoksil (RO ⁻)
Azot dioksid (NO ₂ ⁻)	Ozon (O ₃)	Thiyl radikaller (RS ⁻)
	Lipid hidroperoksit (LOOH)	

2.5.10. Antioksidan Mekanizma

Organizmadaki lipid, protein, nükleik asit ve karbonhidrat gibi moleküller oksidatif hasar için hedef moleküllerdir. Antioksidanlar, oksidatif hasara karşı bu moleküllerin oksidasyonunu geciktiren veya engelleyen maddeler olarak tanımlanmaktadır (39). Hücre dışında ve hücrede farklı organellerde yerleşerek

savunma mekanizmasında rol oynayan bu biyomoleküller yani antioksidanlar enzimatik yapıda olabileceği gibi non-enzimatik yapıda da olabilirler.

Enzimatik yapıdaki antioksidanlar içinde superoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon redüktaz ve glutatyon S-transferaz sayılabilir.

Enzimatik yapıda olmayanlar arasında askorbik asit, tokoferoller, β -karoten gibi vitamin yapıya katılan antioksidanlar sayılabileceği gibi glutatyon, α -lipoik asit, ubikinol, ürik asit, L-karnitin, transferrin, selenyum gibi antioksidan özellik gösteren maddeler de sayılabilir (14).

2.6. KAROTENOİDLER

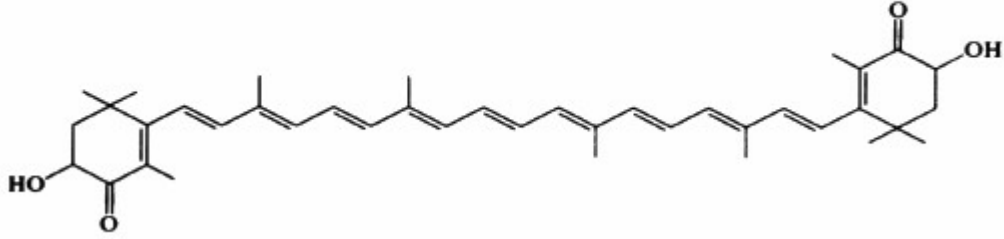
Karotenoidler; fitoplanktonlar, algler, bitkiler ile sınırlı sayıdaki mantar ve bakteriler tarafından üretilen, 700'ün üzerinde yağda çözünebilen bir pigment grubunu oluştururlar (6). Karotenoidler havuç, domates, greyfurt, portakal, ıspanak gibi sebze ve meyvelere kırmızı, turuncu, sarı ve yeşil renklerini veren maddelerdir (11, 107).

Karotenoidlerin çoğu çift halkalı, 40 karbon atomu içeren doymamış hidrokarbonlardır. Karotenoidlerin oksijen içerenleri ksantofiller olarak adlandırılırken, tamamen karbon ve hidrojenle oluşanlar ise karotenler adlandırılır. Karotenoidler, çift bağ ihtiva ettikleri için havadaki oksijenle ve ultraviyole ışınlarla hızla oksitlenmektedirler (107).

Karotenoidler çeşitli özelliklerine göre; karotenler, ksantofiller, karotenoid ketonlar ve karotenoid asitler olarak dört ana grupta adlandırılmaktadırlar (11).

2.7. ASTAKSANTİN

Karotenoidlerin keton ailesinden olan ASTA özellikle deniz canlılarının (karides, yengec, istakoz ve balık yumurtaları) kabuklarında doğal olarak bulunan kırmızı renkli bir pigment olup, hücre membran yapısının korunmasında etkili bir mekanizmaya sahip olduğu bildirilmektedir (36, 100, 101). Bazı canlılar renk pigmenti yönünden oldukça zengindirler. ASTA içeren *Haematococcus pluvialis* bir klorofit alg türünden olup, organizmasında en yüksek düzeyde ASTA biriktirmektedir (73). Kimyasal olarak β -karotene ve A vitaminine benzerdir (45).



Şekil 9. Astaksantin Kimyasal Yapısı (11)

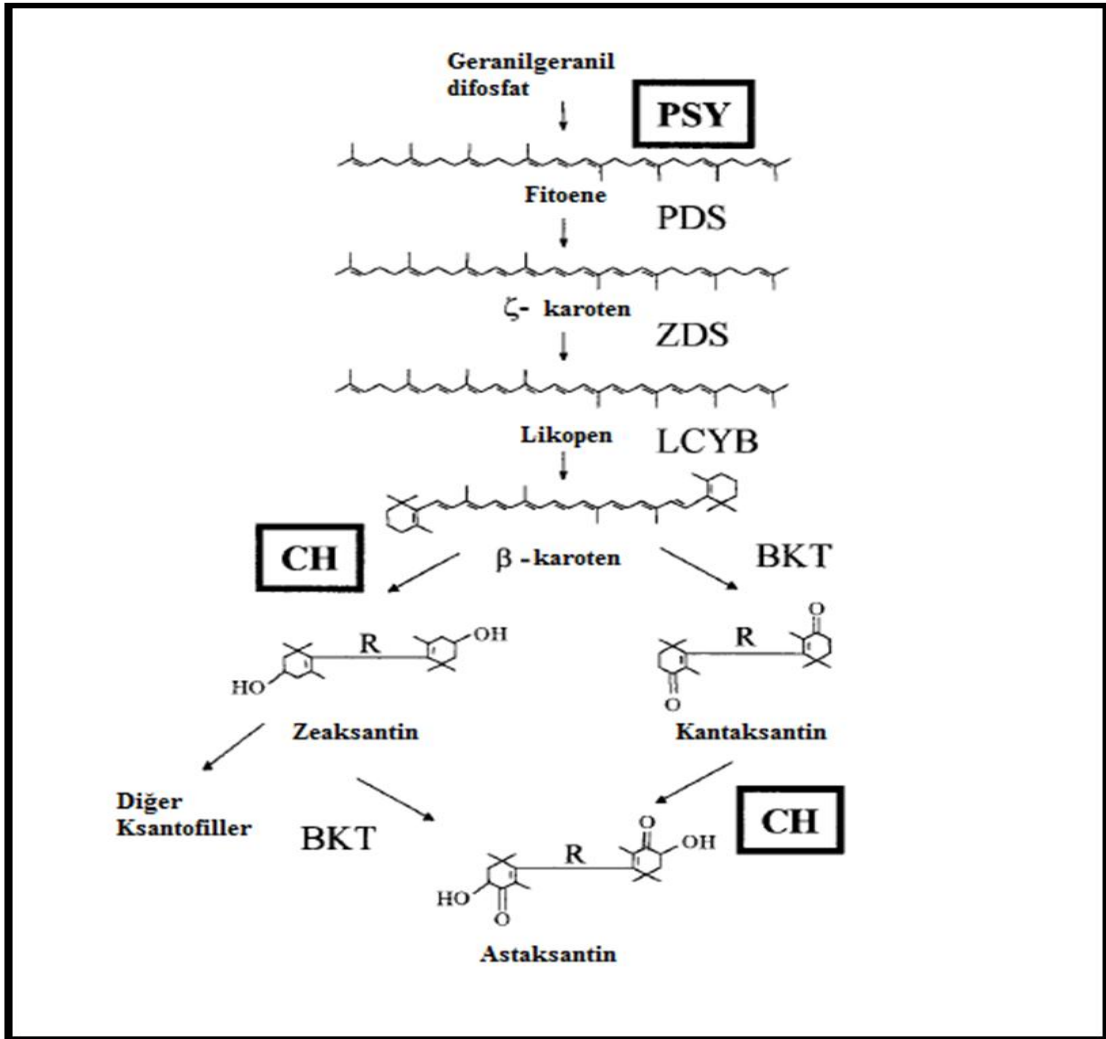
ASTA diğer karotenoidlere göre ısıya karşı dayanıklı olup, renk değişikliği göstermemektedir. Diğer antioksidanlara kıyasla yapısında oksijen içermesi ve lipofilik olması nedeniyle kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçebilmektedir ve santral sinir sistemi ile beyin hücrelerini koruyucu etki gösterdiği bildirilmektedir (73, 99). Mitokondrium içinde gerçekleşen birden fazla oksidatif reaksiyon sonucunda oluşan SOR hücrede oksidatif hasara neden olduğu bildirilmektedir (34).

ASTA pigmenti "İnsanoğlunun keşfettiği doğadaki en güçlü ve güvenli antioksidant" olarak kabul edilmektedir. Antioksidan aktivitesinin E vitamininden 550 kat, C vitamininden 6000 kat, Koenzim Q10'dan 800 kat, Karotenden 10 kat daha güçlü olduğu bulunmuştur

2.7.1. Astaksantin'in Biyosentezi

ASTA'nın biyosentezi birkaç deniz canlısında yapılmakla birlikte *Hematococcus pluvialis* adlı algin doğal ASTA biriktirme özelliği vardır.

ASTA'nın biyosentezi geranilgeranil difosfat molekülünün fitoen formuna dönüşmesi ile başlar ve bunu fitoen sentaz enzimi başlatır. β -karotenin biyosentezi dörtlü zincir reaksiyonu önderliğinde gerçekleşir ve likopen sentezlenir. Bunu takiben de ikili döngü reaksiyonu gerçekleşir. *Hematococcus pluvialis*'deki β -karotenin ASTA'ya dönüşmesi, β -karoten ketolaz (BKT) ve karotenoid hidroksilaz (CH) enzimleri ile olur. Döngünün birinde BKT, β -carotene'i Kantaksantin'e dönüştürür. CH de kantaksantin'i ASTA'ya dönüştürür. Döngünün diğerinde ise CH, β -Karoteni Zeaksantin'e dönüştürür. BKT de Zeaksantin'i diğer ksantofil ve ASTA'ya dönüştürür (94, 104).

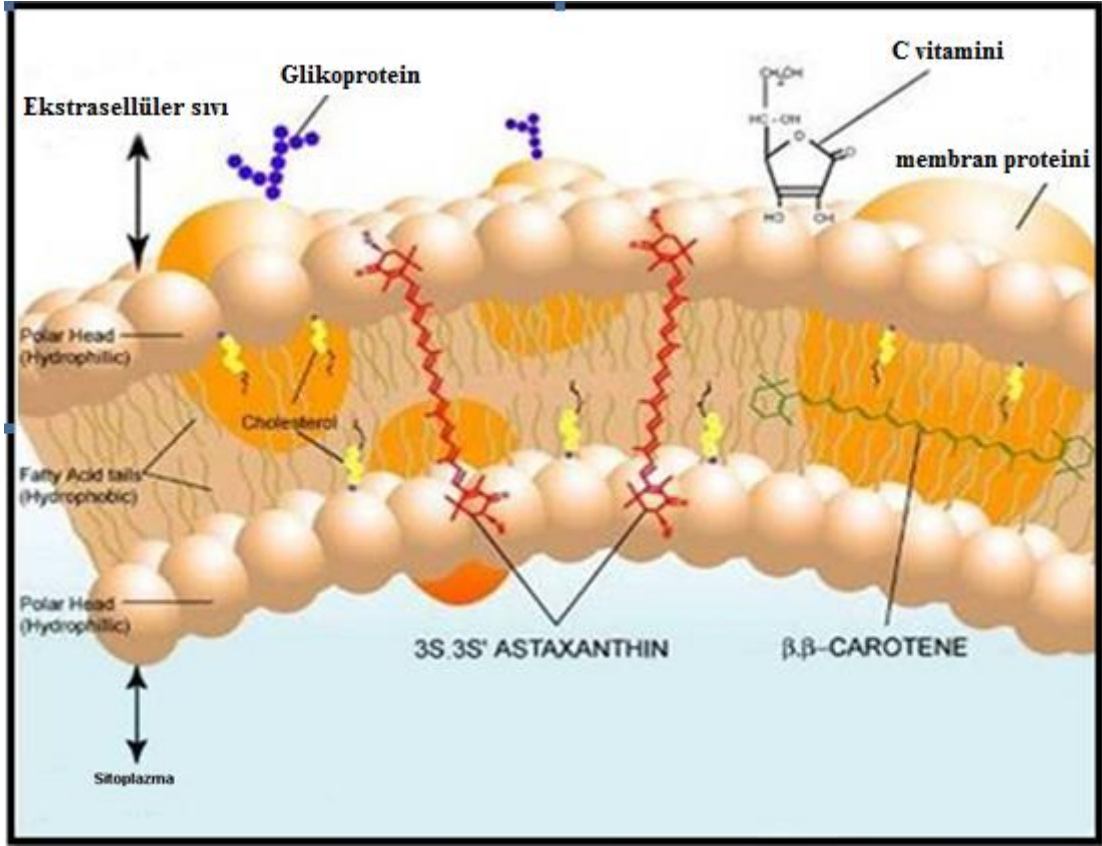


Şekil 10. Astaksantin'in biyosentezi (94)

Astaksantin biyosentezinde rol oynayan enzimler; Fitoen sentaz (PSY), Fitoen desaturaz (PDS), ζ-karoten desaturaz (ZDS), Likopen siklaz (LCYB), karotenoid hidroksilaz (CH), β-karoten ketolaz (BKT)

2.7.2. Astaksantin'in Etki Mekanizması

Astaksantin diğeri karotenoidler gibi tekli oksijenin uyarılmasıyla açığa çıkan enerjiyi emerek tekli oksijen ve diğeri serbest radikalleri elektrondan zengin polien zincirlerini oluşturarak uzaklaştırılmasını sağlar. Bu şekilde astaksantin hücreleri ve dokuları hasardan korur. Karotenoid yapısı değişmeden kalır ve tekrar radikal tutucu olarak kullanılmaktadır.



Şekil 11. Astaksantin'in hücre zarındaki durumu (42)

ASTA, karotenoid grubuna dahil bir antioksidanttır. β- Karotenle hemen hemen aynı biyosentezi kullanır. Oluşan polien zincirleri hücreyi serbest radikallerden korumada rol oynamaktadır.

➤ **Astaksantin 3 mekanizma ile hücreleri korumaktadır:**

- 1- Tekli oksijeni uzaklaştırma ve ısı olarak enerjiyi dağıtma,
- 2- Zincir reaksiyonlarını önlemek veya sonlandırmak için radikallerin uzaklaştırılması,
- 3- Membran lipid peroksidasyonunu inhibe membran yapısını korumaktadır.

ASTA'nın aynı zamanda keto-hidroksil gruplarını içerdiğinden bu özel moleküler yapısından dolayı hücre zarına çok iyi oriyente olmakta ve hücrenin hem iç ve hem de dış membranında kalıcı olmasını sağlamaktadır. Astaksantin'nin bu özelliği sadece iç veya dış membranda lokalize olabilen beta-karotene and vitamin C'ye göre hücreyi membran peroksidasyonundan daha iyi bir korumaktadır.

ASTA'nın insanlar üzerindeki etkileri alanında yapılan çalışmalar sınırlı olmakla birlikte, yapılan araştırmalara göre güneş hasarlarına karşı koruma, kas fonksiyonu ve Parkinson, Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi üzerinde olumlu etkileri de dahil olmak üzere kuvvetli bir antioksidan olduğu belirtilmiştir (42).

Son yıllarda, iskemi-reperfüzyon kasarına karşı ASTA'nın koruyucu etkisine daha fazla dikkat çekilmiştir (66).

2.7.3. Astaksantin'in Faydaları

- Anti-inflamuar etki göstermektedir.
- Antikor üreten hücrelerin artmasını sağlayarak bağışıklık sistemini güçlendirmektedir.
- Beyin ve sinir sistemini koruyucu etki göstermekte, kan-beyin bariyerini geçebilmektedir.
- Vücudun her noktasında, iç organlar ve deride de olumlu antioksidan etki göstermektedir.
- Alzheimer ve Parkinson'u önlemeye yardımcıdır.
- Kanser hücrelerinin oluşumunu önlemeye yardımcıdır.
- Kalp krizi riskini düşürmeye yardımcıdır.
- Kan basıncını normalleştirmeye yardımcıdır.
- Prostat sorununu düzeltmeye yardımcıdır.
- Diyabeti önleyici ve azaltmaya yardımcı etkileri bulunmaktadır.
- Bütün hücreleri oksidatif hasara karşı koruyucudur.

- Vücudumuzda yıllar geçtikçe giderek biriken ve hücre yapısına girerek DNA yapısına zarar vererek tümör oluşumuna sebep olabilecek serbest radikallere karşı vücudumuzu korumaktadır.
- Hücre zarı ve mitokondrinin korunmasına yardımcı olmaktadır.
- Gözleri ve deriyi radyasyonun zararlı etkilerine karşı korumaktadır.
- Göz sağlığı üzerinde olumlu etkileri olup retina bariyerinin içine nüfuz edebilen birkaç antioksidandan biridir (44, 56, 103).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları:

Çalışmamızda Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TICAM)'dan sağlanan Spraque-Dawley cinsi, 42 adet, 250-300 gr ağırlığında erişkin erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar deney süresince 12 saat aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, ısı 24±2°C ve nemi % 55±5 olarak ayarlanmış ortamda yaşatıldı. Standart yiyecek ve suyla beslendi. Hayvanlar deneye başlamadan 1 hafta önce demir kafeslere konularak ortam koşullarına adaptasyonları sağlandı.

3.2. Kimyasallar:

Astaksantin, Xi'an Yuensun Biological Technology Company Limited (China) firmasından, Ketalar Eczacıbaşı firmasından (Küçükkarıştırıcı, Lüleburgaz), Alfazyne Alfasan firmasından (Woerden, Hollanda), İpek iplik (catgut-plain) Astra- Sutramed SA firmasından (Lausanne, Switzerland) sağlandı.

3.3. Deney Grupları:

Her grupta 7 hayvan olmak üzere 6 grup oluşturuldu:

Grup 1: Kontrol Grubu

Bu gruptaki hayvanlara hiçbir işlem uygulamamış olup histolojik yapının diğer gruplarla kıyaslaması için kullanıldı.

Grup 2: İskemi Grubu

Torsiyon, sol testisin spermatik kordunun saat yönünün tersine 720° döndürülerek ve 2 yerden ipele bağlanarak sağlandı ve normal anatomik bölgesine yerleştirildi. Cilt 4/0 ipek sütür ile yaklaştırılarak geçici olarak kapatıldı. 4 saat sonra cilt süturları açılıp fiksasyon dikişleri alındıktan sonra testisler çıkartılıp alındı (57, 66).

Grup-3: İ/R Grubu

Torsiyon, sol testisin spermatik kordunun saat yönünün tersine 720° döndürülerek ve 2 yerden ipe bağlanarak sağlandı ve normal anatomik bölgesine yerleştirildi. Cilt 4/0 ipek sütür ile yaklaştırılarak geçici olarak kapatıldı. 4 saat sonra cilt süturları açılarak testis eski pozisyonuna getirildi ve 2 saat detorsiyone edildi. 6 saatlik deney süresinin sonunda cilt süturları açılıp fiksasyon dikişleri alındıktan sonra testisler çıkartılıp alındı (57, 66).

Grup-4: İskemi + ASTA Grubu

Deneyden 3 gün önce gavaj ile 100 mg/kg Astaksantin 1 ml zeytin yağı içinde çözündürülerek verildi. Deney günü torsiyon, sol testisin spermatik kordunun saat yönünün tersine 720° döndürülerek ve 2 yerden ipe bağlanarak sağlandı ve normal anatomik bölgesine yerleştirildi. Cilt 4/0 ipek sütür ile yaklaştırılarak geçici olarak kapatıldı. 4 saat sonra cilt süturları açılıp fiksasyon dikişleri alındıktan sonra testisler çıkartılıp alındı (19, 57, 66, 103).

Grup-5: İ/R + ASTA Grubu

Deneyden 3 gün önce gavaj ile 100 mg/kg Astaksantin 1 ml zeytin yağı içinde çözündürülerek verildi. Deney günü torsiyon, sol testisin spermatik kordunun saat yönünün tersine 720° döndürülerek ve 2 yerden ipe bağlanarak sağlandı ve normal anatomik bölgesine yerleştirildi. Cilt 4/0 ipek sütür ile yaklaştırılarak geçici olarak kapatıldı. 4 saat sonra cilt süturları açılıp fiksasyon dikişleri alındıktan sonra testis eski pozisyonuna getirilip tekrar normal anatomik bölgesine yerleştirildi ve cilt 4/0 ipek sütür ile yaklaştırılarak geçici olarak kapatıldı. 2 saat detorsiyone edildi ve 6 saatlik deney süresinin sonunda cilt süturları açılıp fiksasyon dikişleri alındıktan sonra testisler çıkartılıp alındı (19, 57, 66, 103).

Grup -6: ASTA Grubu

Herhangi cerrahi bir işlem uygulanmadan 3 gün boyunca gavaj ile 100 mg/kg Astaksantin 1 ml zeytin yağı içinde çözündürülerek verildi (19, 103).

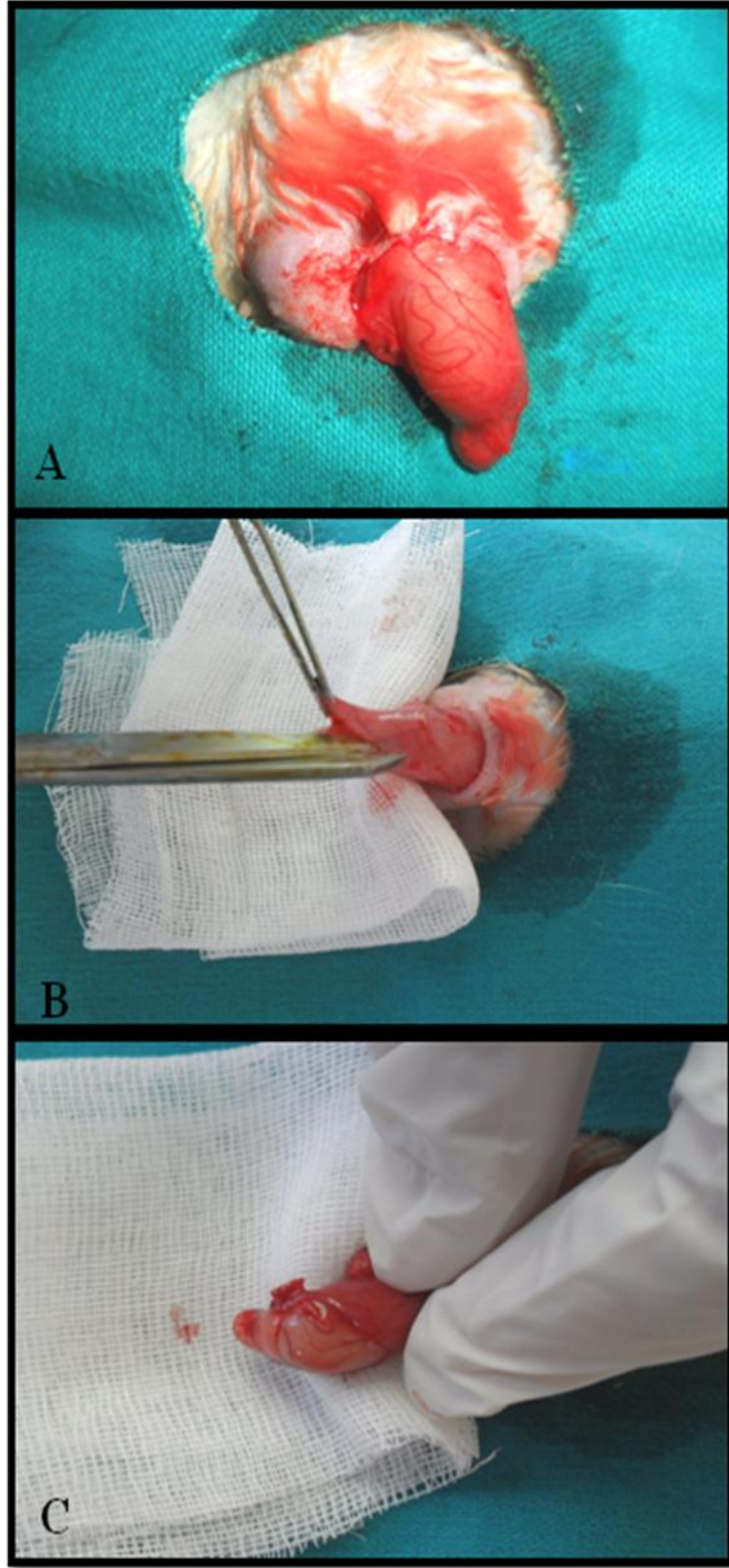
3.4. Cerrahi İşlemler:

Cerrahi girişim öncesi anestezi, i.m. yolla 70 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin uygulanarak sağlandı. Gerektiğinde ratların hareketsizliğini sürdürmek için anestezi ajanlarının aynı dozları tekrarlandı. Skrotum derisine betadin ile temizlik yapıldı. Deneklere skrotum orta hat üzerinde, 2 cm uzunluğunda vertikal cilt ve cilt altı kesisi uygulandı. Skrotal boşlukta sol testis tunika vaginalis ve spermatik kord ile birlikte gubernakulumdan künt disseksiyonla ayrılarak dışarıya alındı. Her işlem sonrasında testis dokusu skrotuma yerleştirildi ve 4.0 ipek suture kullanılarak skrotum kapatıldı.

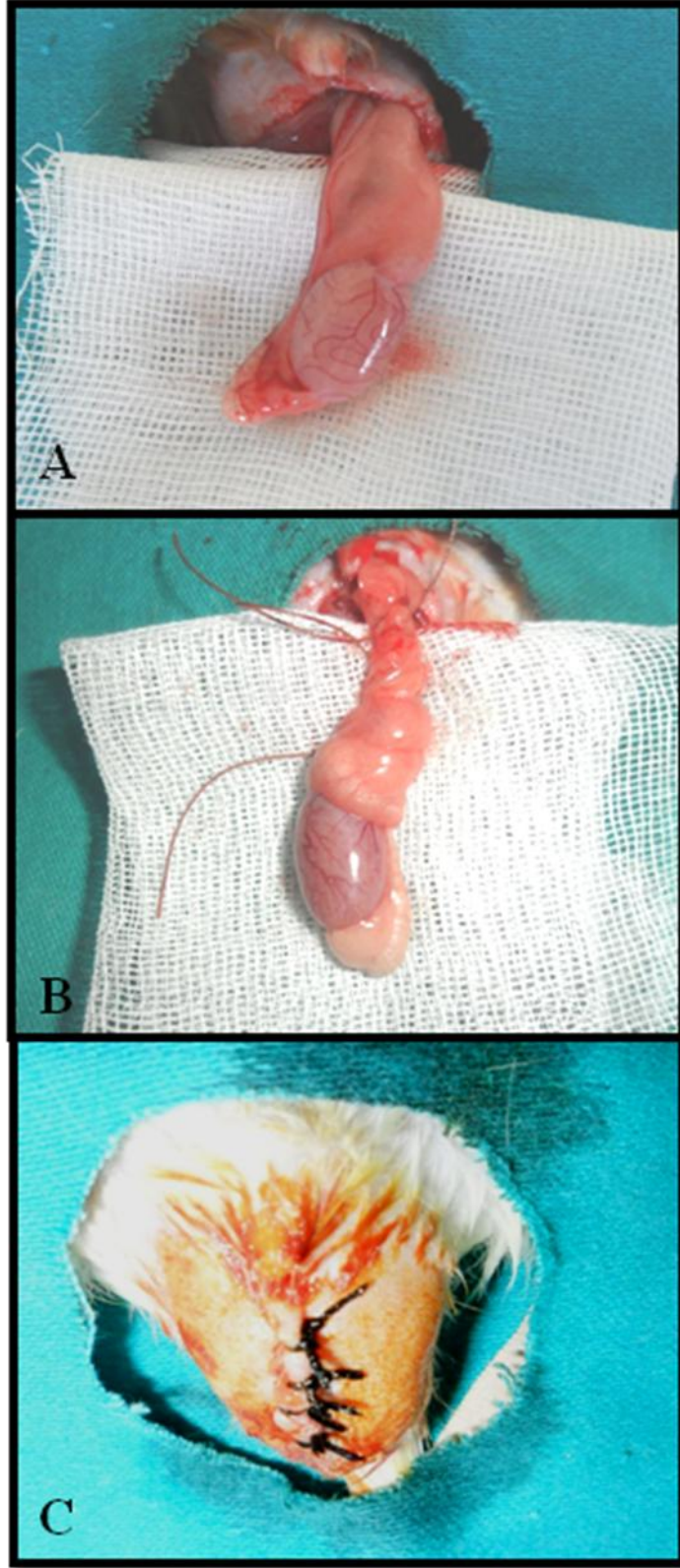
Torsiyon, spermatik kordun 720° saat yönünün tersine çevrilmesiyle oluşturuldu ve spermatik kord 2 yerden ipele bağlandı. 4 saat torsiyon süresinin ardından, 2 saat boyunca detorsiyon uygulandı. Detorsiyon, torsiyonun aksi yönünde eş derecede çevrilmesiyle sağlandı. 6 saatlik deney periyodunun sonunda hayvanlar ketamin/ksilazin ile anestezi altında sakrifiye edildi ve skrotumdaki dikişler alınıp testisler çıkarıldı.



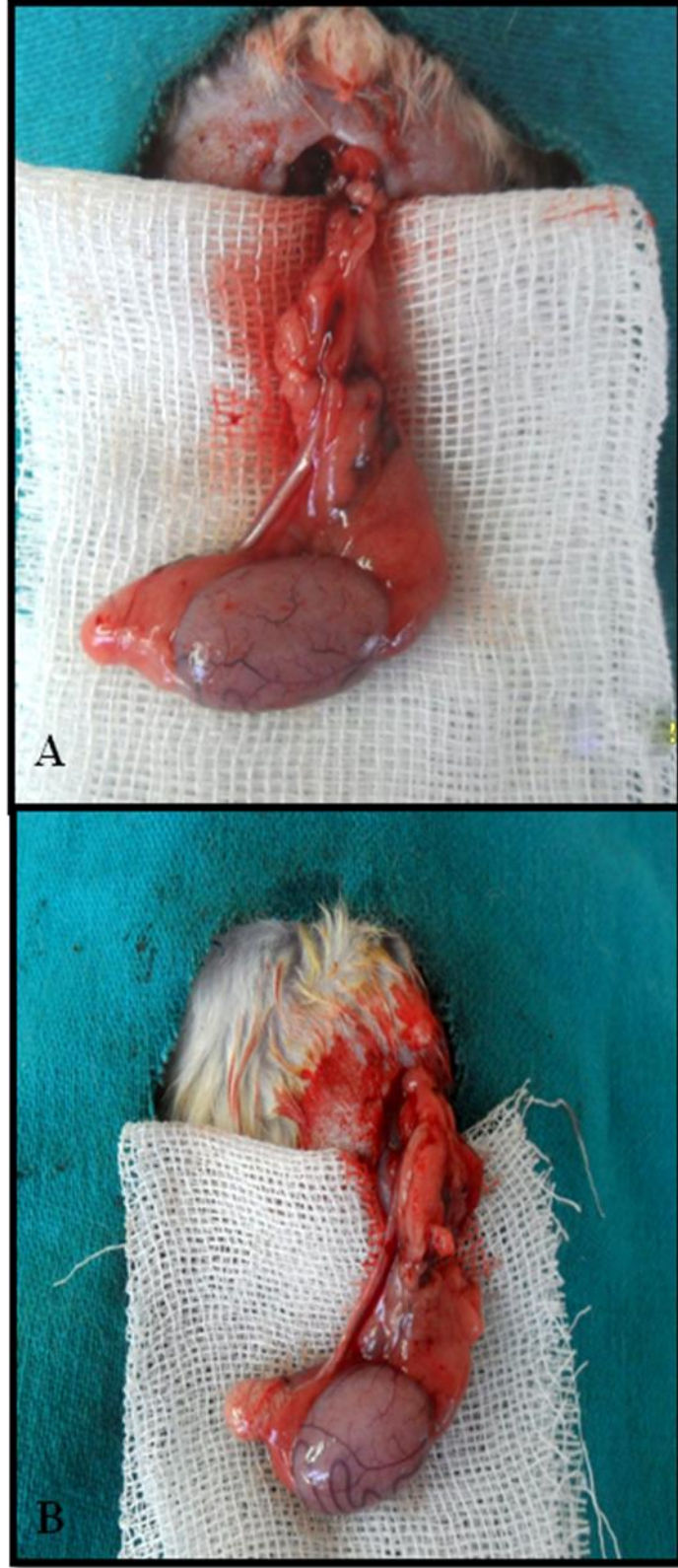
Şekil 12. Cerrahi işlemler. (A): Skrotumun traş edilerek betadin ile temizlenmesi gösterilmiştir. (B): Skrotum orta hat üzerinde, 2 cm uzunluğunda vertikal cilt ve cilt altı kesisi uygulanması gösterilmiştir.



Şekil 13. Cerrahi işlemler. (A) : Testisin çevre dokulardan ayrılıp serbestleştirilmesi gösterilmiştir. (B) : Tunika vajinalisin kesilmesi gösterilmiştir. (C) : Tunika vajinalis kesildikten sonra testisin doğurtulması gösterilmiştir.



Şekil 14. Cerrahi işlemler. (A): Torsiyon öncesi testisin görünümü. (B): Torsiyone edilmiş testisin görünümü. (C): Torsiyondan sonra skrotuma geçici dikiş atılması gösterilmiştir.



Şekil 15. Cerrahi işlemler. (A): 4 saat torsiyon sonrası testisin görünümü gösterilmiştir. (B): 4 saat torsiyon + 2 saat detorsiyon sonrası testisin görünümü gösterilmiştir.

3.5. Histolojik Yöntem:

Çalışmamızda testis dokusu örnekleri ışık mikroskopik inceleme için bouin fiksatifine konuldu ve uygun takip yöntemi uygulandı (Tablo 2). Daha sonra dokular gömülerek bloklandı. Parafine gömülen bloklardan 4 µm kalınlığında kesitler alındı ve preparat haline getirilen örnekler histolojik inceleme için Hemotoksilen-Eosin (HE) boyası ile boyandı (Tablo 3). Bazal laminanın incelenmesi için de Periyodik Asit Schiff (PAS) ve Hemotoksilen kombinasyonu ile boyama yapıldı (Tablo 4). Işık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapılan preparatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekildi.

3.5.1. Işık Mikroskopik İncelemeler İçin Dokuların Hazırlanması

3.5.1.1. Bouin fiksatifinin hazırlanışı:

- Pikrik asit 75 ml
- %37'lik formaldehit 25 ml
- Glasiyal asetik asit 5 ml

Pikrik asitin hazırlanışı:

- Distile su 1 lt
- Pikrik asit 12 gr

Pikrik asitin iyice erimesi sağlanır ve balon joje içerisinde ağzı kapatılarak 1 gece dinlenmeye bırakılır. Kullanılmadan önce süzülür.

Tablo 2. Doku takip yöntemine ait süreler

Bouin Fiksatifinde Takip	
Bouin fiksatifi	2 gün
% 50'lik alkol	3 defa çalkala

% 70'lik alkol	1 gece
% 80'lik alkol	1 saat
% 90'lık alkol	1 saat
% 96-I alkol	1 saat
%96-II alkol	1 saat
%100'lük alkol	30 dakika
Ksilol-I	10 dakika
Ksilol-II	10 dakika
Parafin-I	45 dakika
Parafin-II	1 saat
Parafin-III	1 saat

Tablo 3. H-E boyama yöntemine ait uygulama süreleri

H-E Boyama Yöntemi	
Ksilol-I	10 dakika
Ksilol-II	10 dakika
% 96-I'lik alkol	5 dakika
% 96-II'lik alkol	5 dakika
% 90'lık alkol	5 dakika
% 80'lik alkol	5 dakika
% 70'lik alkol	5 dakika
Distile su	5 dakika
Hematoksilen	1 dakika
Çeşme suyu	akarsu altında 5 dakika yıkama
Eosin	5 dakika
% 70'lik alkol	3 dakika
% 80'lik alkol	3 dakika

% 90'lık alkol	3 dakika
% 96-I'lik alkol	3 dakika
% 96-II'lik alkol	3 dakika
Ksilol-I	10 dakika
Ksilol-II	10 dakika

3.5.2.1. PAS+ H boyasının hazırlanışı:

A- Periyodik Asit solüsyonu

Periyodik asit	1 g
Distile su	200 ml

B- Schiff solüsyonu

Bazik fuksin	1 g
Distile su	200 ml
Potasyum metabisülfid ($K_2S_2O_5$)	2 g
Hidroklorik asit (HCl)	2 ml
Aktif kömür	2 g

Periyodik asit distile suda çözdürüldü ve kaynatıldı. Kaynatılan solüsyona bazik fuksin ilave edilerek karıştırıldı ve 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra 2 g $K_2S_2O_5$ eklenerek karıştırıldı. Oda sıcaklığına geldiğinde 2 ml HCl eklenip karıştırıldı. 2 g aktif kömür eklenip yeniden karıştırıldıktan sonra karanlık ortamda oda sıcaklığında bir gece bekletildi. Solüsyon süzülerek kullanıldı.

Tablo 4. PAS-H boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri

PAS-H Boyama Yöntemi	
Ksilol-I	10 dakika
Ksilol-II	10 dakika

% 96-I'lik alkol	5 dakika
% 96-II'lik alkol	5 dakika
% 90'lık alkol	5 dakika
% 80'lik alkol	5 dakika
% 70'lik alkol	5 dakika
Distile su	5 dakika
Periyodik asit	5 dakika
Distile su	Hafifçe çalkalanıp 2 dakika bekletilir
Shiff solüsyonu	15 dakika
Çeşme suyu	Yıkama
Hematoksilen	1,5 dakika
Çeşme suyu	Yıkama
% 70'lik alkol	3 dakika
% 80'lik alkol	3 dakika
% 90'lık alkol	3 dakika
% 96-I'lik alkol	3 dakika
% 96-II'lik alkol	3 dakika
Ksilol-I	10 dakika
Ksilol-II	10 dakika

3.5.2. Tübül çapı ölçümü

Her gruptaki 7 deneğin sol testisinden yapılan 7 preparatta rastgele seçilen 5 alandaki 20 adet seminifer tübülün çapı Görüntü İşleme ve Analiz programıyla (Bs200Pro) 8 noktadan olmak üzere ölçüldü ve veriler uygun istatistik programlarında değerlendirildi (75).

3.5.3. Germ hücresi ve Leydig hücresi sayımı

Germ ve Leydig hücreleri için her grubun 7 preparatın herbirinden rastgele seçilen 5 alandaki tübüllerdeki germ hücreleri Görüntü İşleme ve Analiz programında (Bs200Pro) otomatik olarak, interstisyel alandaki Leydig hücreleri ise aynı programda manuel olarak sayıldılar ve veriler uygun istatistik programıyla değerlendirildi (41).

3.6. İstatistiksel Analiz:

Analizlerin uygulanmasında IBM SPSS Statistics 21 paket programından yararlanılmıştır. Tanımlayıcı veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Grupların karşılaştırılmasında veriler normal dağılıyor ise Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA, Post hoc: Tukey) kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyen çoklu grupların testinde ise Kruskal-Wallis H testi kullanılmıştır. Verilerin normal dağılım varsayımına uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile test edilmiştir. İstatistiksel önemlilik için $p < 0.05$ değeri kriter kabul edilmiştir.

4. BULGULAR:

4.1. Işık Mikroskopik Bulgular

Kontrol grubuna ait sıçan testis dokularının ışık mikroskopik incelemelerinde seminifer tübüller, spermatogenik seri hücreleri, sertoli hücreleri, bazal membran normal yapıda gözlenmiştir. Geç spermatidler, kuyruk lümeninde, baş tübül duvarına doğru ve sertoli hücreleri arasına lokalize olmuş şekilde normal görünüyordu. İnterstisyel alandaki Leydig hücreleri ve kan damarları normal yapıda gözlenmiştir. İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri eozinofilik sitoplazmaları, çok sayıda çekirdekçik içeren eksantrik yerleşimli çekirdeği ve damarlar etrafında gruplar halinde yerleşimleriyle düzgün gözlendi (Şekil 16,17,18,19,20-A). PAS-H boyaması yapıldığında bazal membranın normal yapıda olduğu gözlendi (Şekil 21-A).

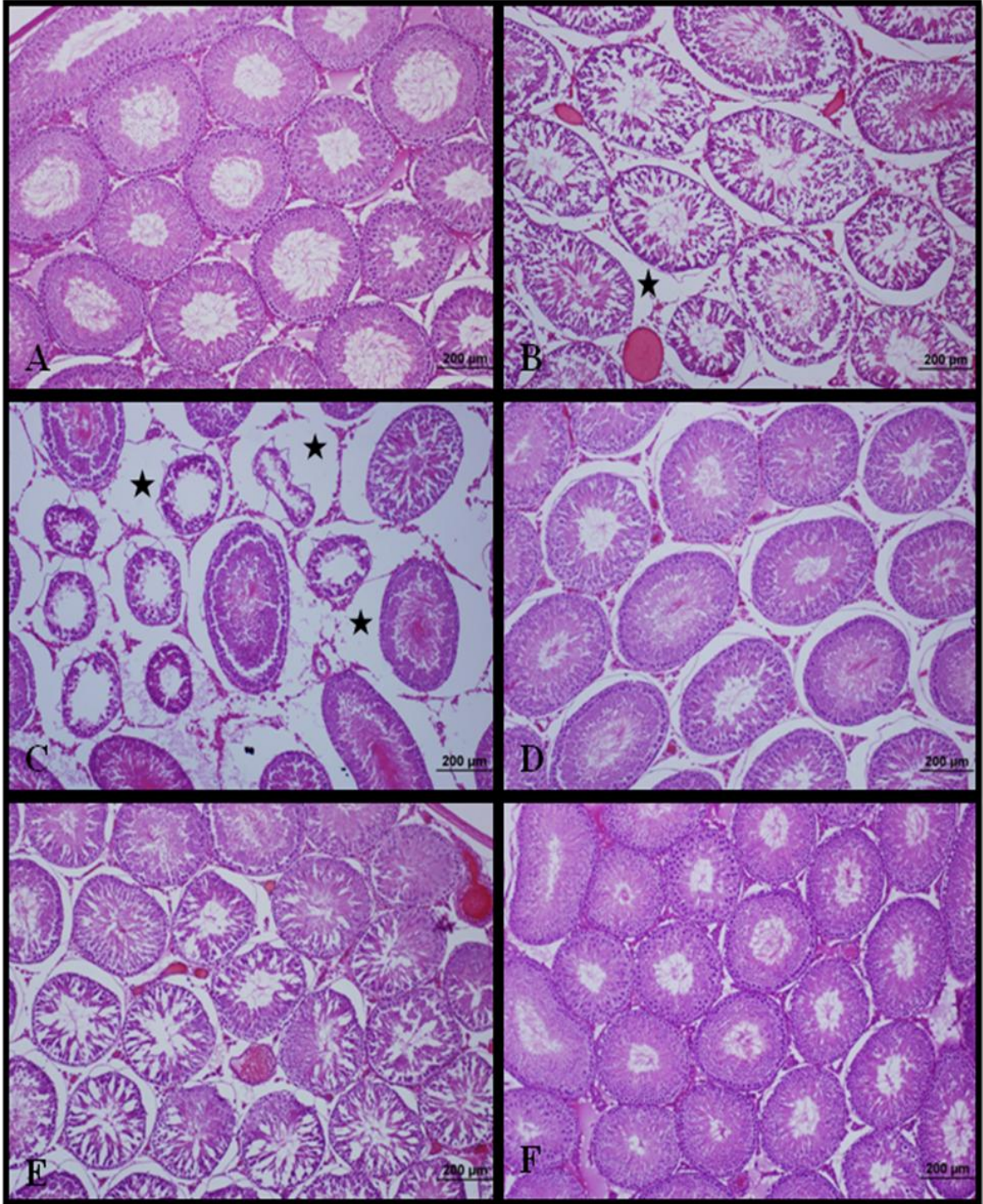
İskemi grubuna ait testis dokularının ışık mikroskopik incelemelerinde atrofiye uğrayan seminifer tübüller gözlendi. Spermatogenik seri hücrelerinde dejenerasyon, azalma ve tübül lümenine dökülmeler gözlendi. İskemik hasara bağlı olarak Sertoli hücrelerinde de hasar gözlendi. Seminifer tübül duvarında çok az vakuolizasyon gözlendi. İnterstisyel alanda genişleme ve damar konjesyonu gözlendi. İnterstisyel alanda bulunan Leydig hücrelerinde herhangi bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 16,17,18,19,20-B). PAS-H boyaması yapıldığında bazal membran ayrılımlarının olduğu gözlenmiştir (Şekil 21-B)

İ/R grubuna ait testis dokularının ışık mikroskopik incelemelerinde çok sayıda atrofik tübül ve ağır hasara uğramış tübüller görülmüştü. Spermatogenik seri hücrelerinde aşırı dejenerasyon, düzensizlik, azalma ve dökülme gözlenmiştir. Seminifer tübül duvarında vakuolizasyon gözlendi. Tübül lümenine atılan dejenere olmuş çok nükleuslu multinükleer dev hücrelerin yanısıra eozinofil sitoplazmalı iri hücreler görülmektedir. İskemik hasara bağlı olarak Sertoli hücrelerinde hasar gözlendi. İnterstisyel alanda genişleme ve damar konjesyonu gözlendi. İnterstisyel alanda bulunan Leydig hücrelerinde herhangi bir değişiklik gözlendi (Şekil 16,17,18,19,20-C). PAS-H boyaması yapıldığında bazal membran ayrılımlarının olduğu gözlendi (Şekil 21-C).

ASTA+ İskemi grubuna ait testis dokuları incelendiğinde seminifer tübüllerin, spermatogenik serinin, sertoli hücrelerinin, interstisyel alanda bulunan Leydig hücreleri ve damarların kontrole yakın olduğu gözlemlendi. İntersitisyel alanda ayrılma minimum düzeydedir (Şekil 16,17,18,19,20-D). Ancak PAS-H boyaması yapıldığında bazal membran ayrılmalarının devam ettiği gözlemlendi (Şekil 21-D). İskemi grubu ile ASTA+İskemi grubu karşılaştırıldığında iskemik hasardan dokuların önemli ölçüde korunduğu gözlemlendi (Şekil 21-B, Şekil 21-D).

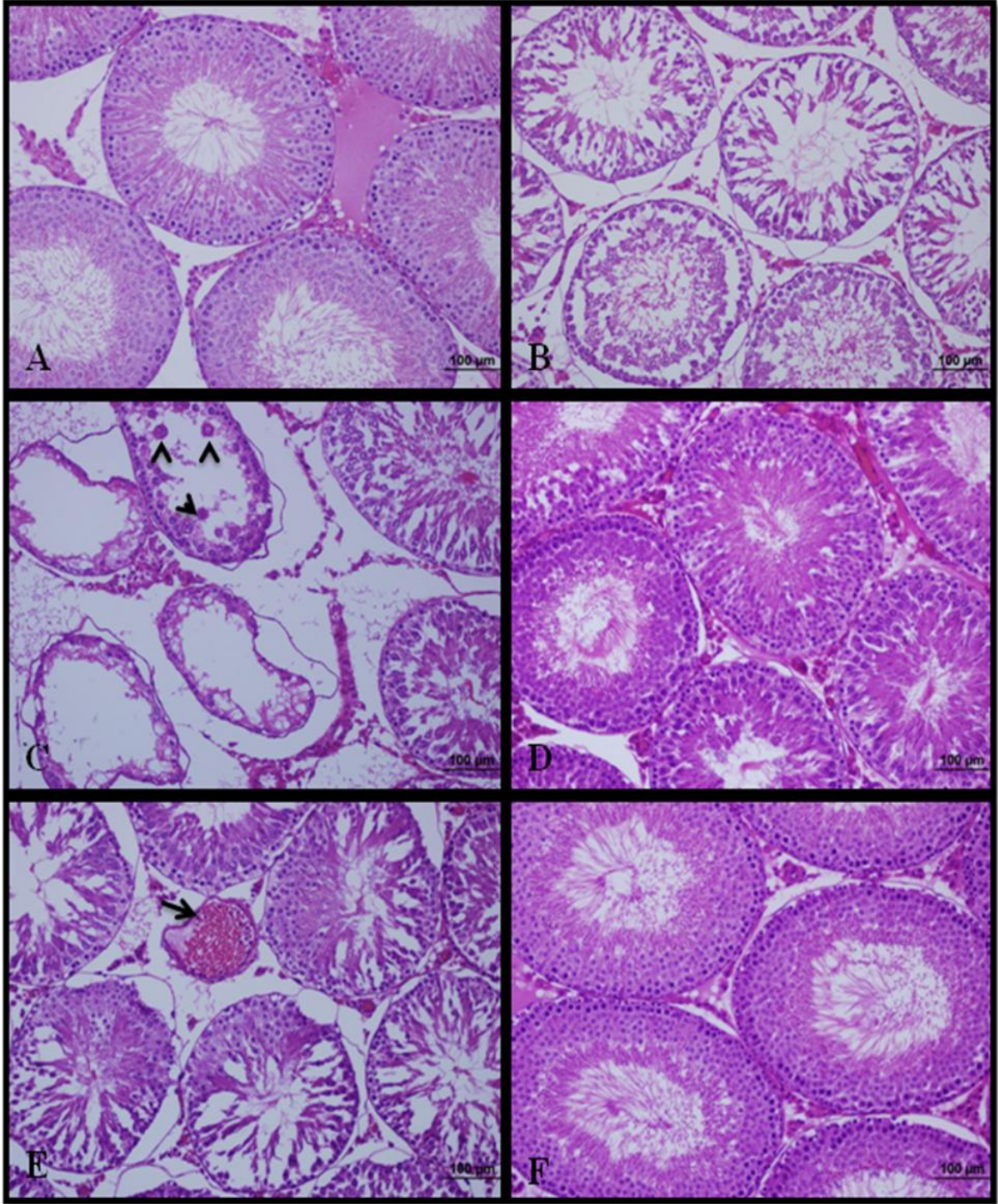
ASTA+ İ/R grubuna ait testis dokularının ışık mikroskopik incelemelerinde tam olarak kontrole yakın bir görüntü yoktur. Bununla birlikte bazı seminifer tübüllerde hücreler arası bağlantılarda kopmalar olduğu gözlemlense de hücrelerde dökülme ve azalma çok fazla olmamıştı. İntersitisyel alanda bulunan Leydig hücrelerinde herhangi bir hasar gözlemlenmedi. İntersitisyel alanda ayrılma vardır ancak çok fazla değildir (Şekil 16,17,18,19,20-E). Ancak PAS-H boyaması yapıldığında bazal membran ayrılmalarının devam ettiği gözlemlendi (Şekil 22-E). ASTA+ İ/R grubu ile İ/R grubu karşılaştırıldığında iskemik hasardan dokuların büyük kısmının korunduğu gözlemlendi (Şekil 16,17,18,19,20-E, Şekil 16,17,18,19,20-C).

ASTA grubuna ait testis dokularının ışık mikroskopik incelemelerinde seminifer tübüller, spermatogenik seri hücreleri, sertoli hücreleri, interstisyel alan dolayısıyla Leydig hücreleri ve kan damarları normal yapıda gözlemlendi (Şekil 16,17,18,19,20-F). PAS-H boyaması yapıldığında bazal membranın da normal yapıda olduğu gözlemlendi (Şekil 21-F).



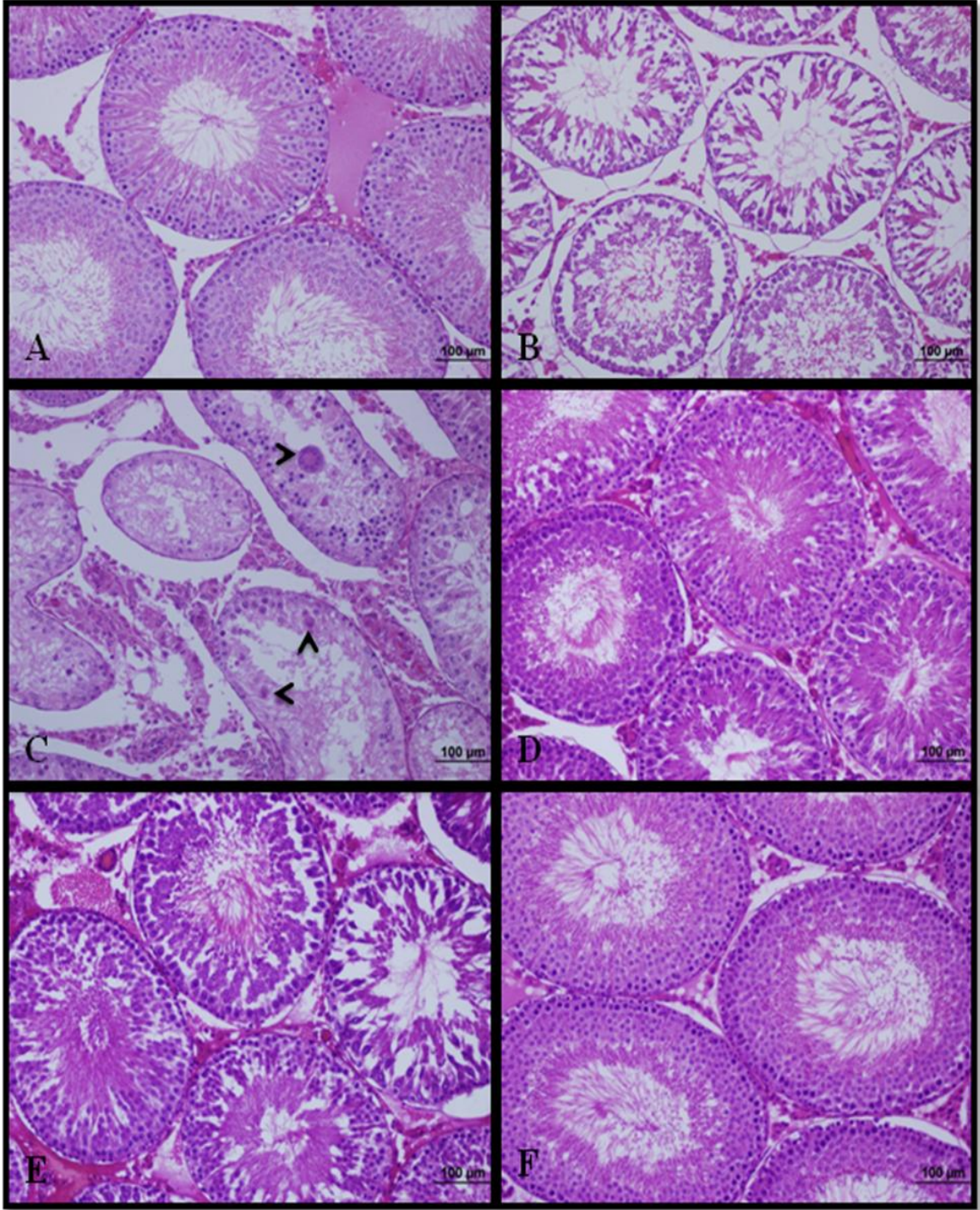
Şekil 16 . Deney gruplarının ışık mikroskopik görüntüleri (HE) (10X)

- A- Kontrol grubu:** Normal yapıda seminifer tübüller görülüyor.
B- İskemi grubu: Hasarlanmış seminifer tübüller ve interstisyel alanda genişleme (★)görülüyor.
C- İ/R grubu: Hasarlanmış seminifer tübüller ve interstisyel alanda genişleme (★)görülüyor.
D- ASTA+ İskemi grubu: Kontrole yakın seminifer tübüller görülüyor.
E- ASTA+ İ/R grubu: Bir kısmı korunmuş seminifer tübüller görülüyor.
F- ASTA grubu: Kontrol grubuna benzer seminifer tübüller.



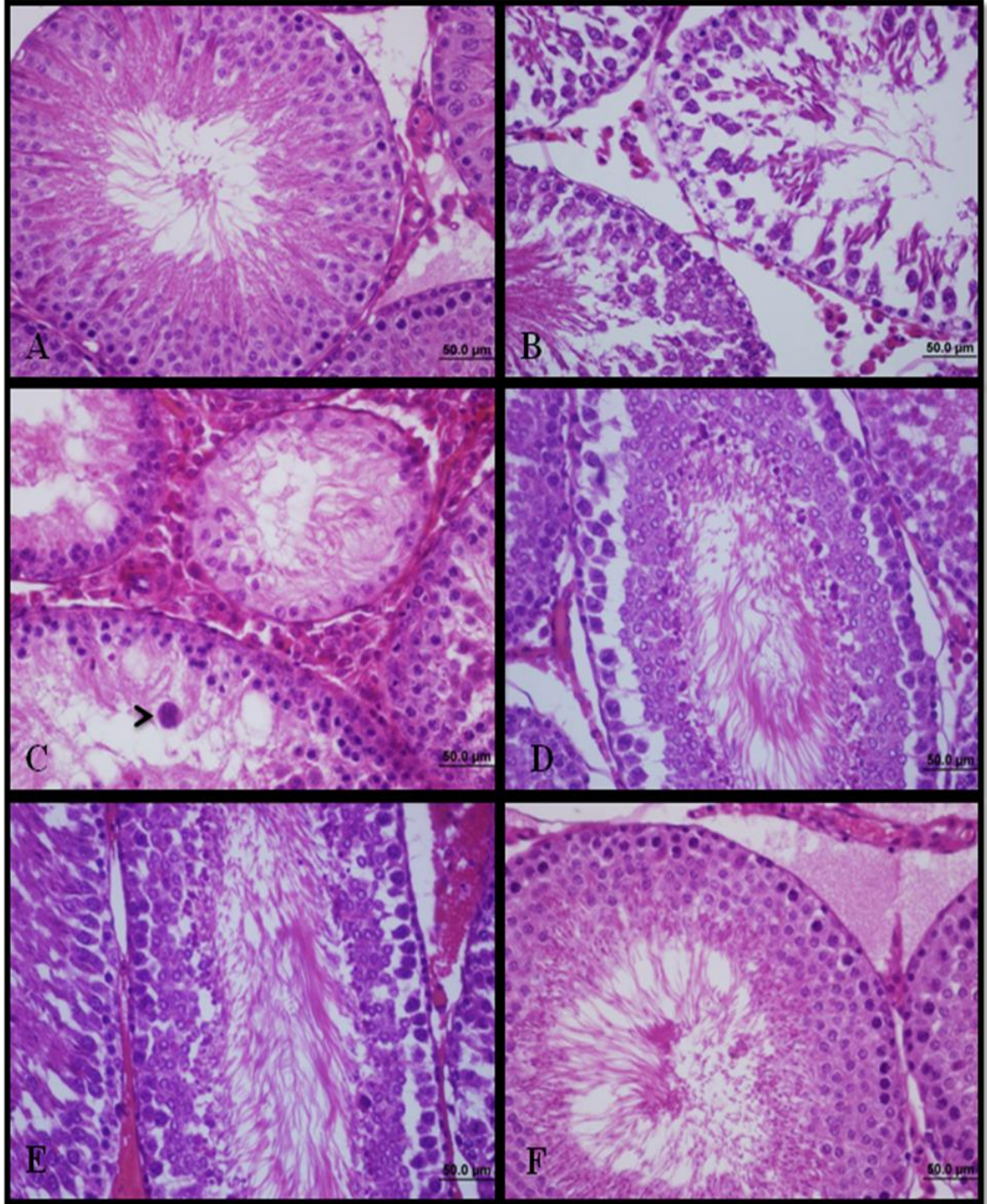
Şekil 17 . Deney gruplarının ışık mikroskopik görüntüleri (HE) (20X)

- A- Kontrol grubu:** Normal yapıda seminifer tübüller görülüyor.
B- İskemi grubu: Seminifer tübüllerde spermatogeneizde düzensizlik görülüyor.
C- İ/R grubu: Tübül lümenine atılmış multinukleer dev hücreler (▶) görülüyor.
D- ASTA+ İskemi grubu: Kontrole yakın seminifer tübüller görülüyor.
E- ASTA+ İ/R grubu: Damar konjesyonu (→) görülüyor.
F- ASTA grubu: Kontrol grubuna benzer seminifer tübüller.



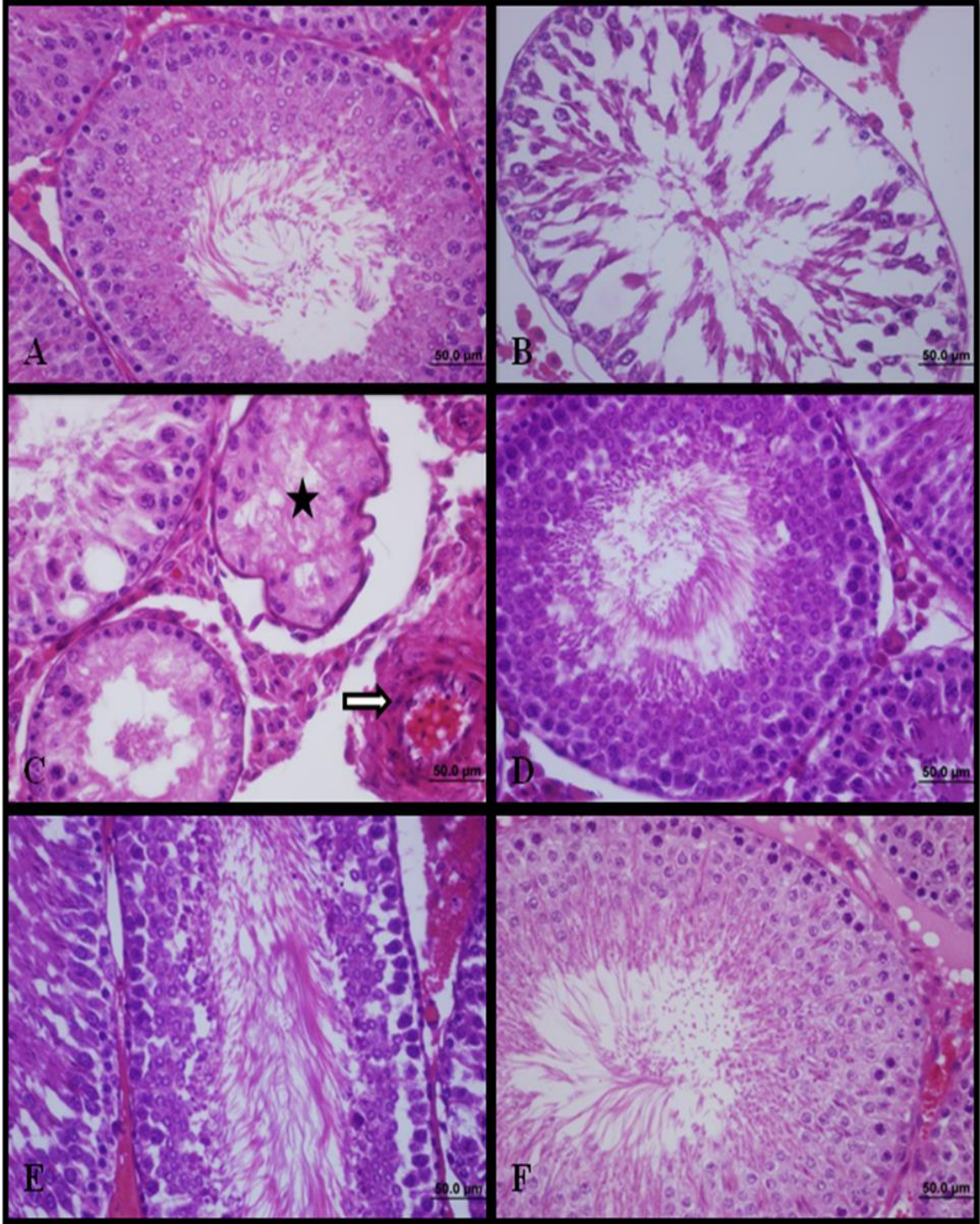
Şekil 18. Deney gruplarının ışık mikroskopik görüntüleri (HE) (20X)

- A- Kontrol grubu:** Normal yapıda seminifer tübüller görülüyor.
B- İskemi grubu: Seminifer tübüllerde spermatogenezde düzensizlik görülüyor.
C- İ/R grubu: Hasarlanmış tübüller , lümene atılan multinükleer hücreler ve eozinofil sitoplazmalı iri hücreler (►) görülüyor.
D- ASTA+ İskemi grubu: Kontrole yakın seminifer tübüller görülüyor.
E- ASTA+ İ/R grubu: Kontrole yakın seminifer tübüller görülüyor.
F- ASTA grubu: Kontrol grubuna benzer seminifer tübüller.



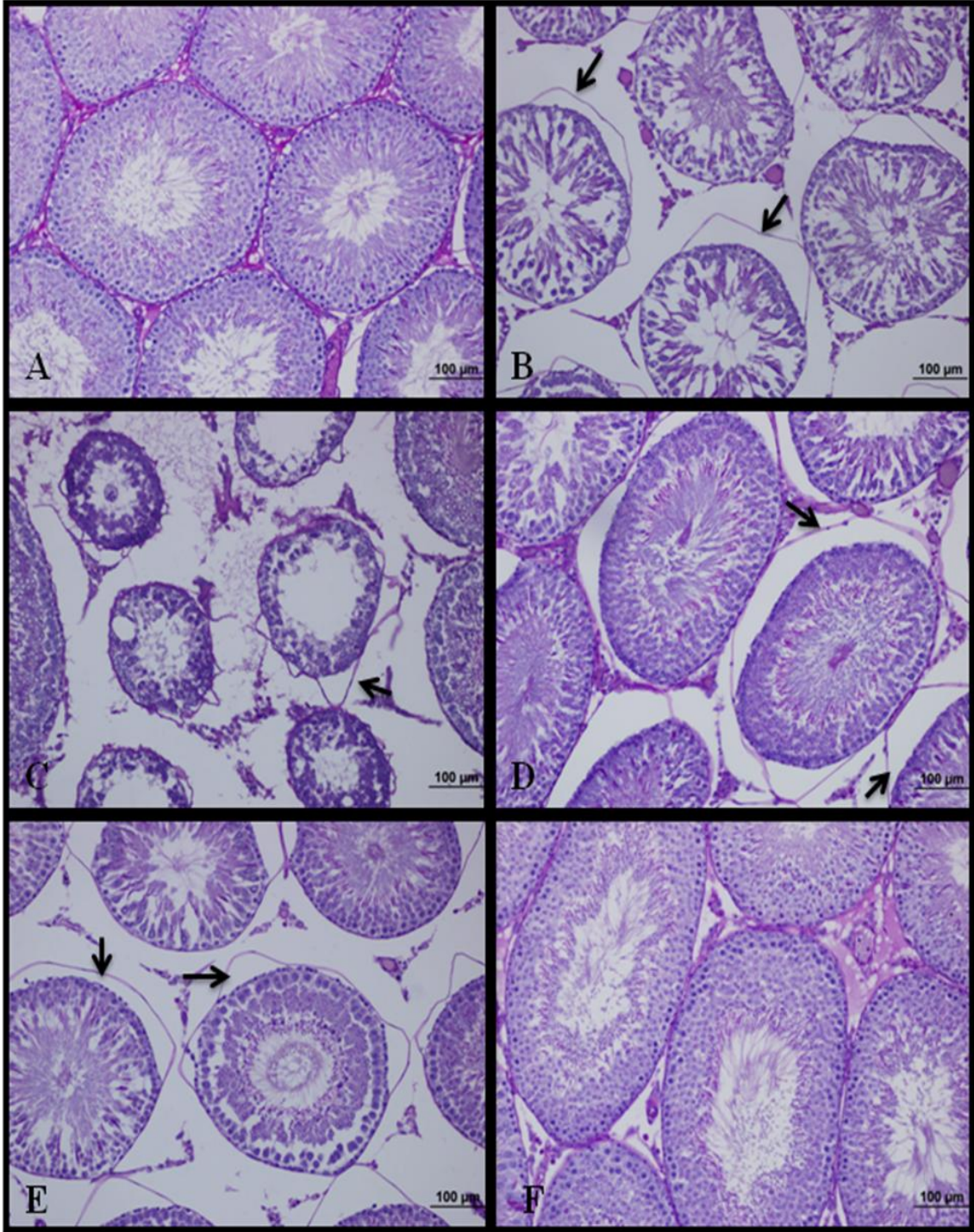
Şekil 19 . Deney gruplarının ışık mikroskopik görüntüleri (HE) (40X)

- A- Kontrol grubu:** Normal yapıda seminifer tübül görülüyor.
B- İskemi grubu: Hasarlanmış tübüller görülüyor.
C- İ/R grubu: Hasarlanmış tübüller ve multinükleer dev hücre (►) görülüyor.
D- ASTA+ İskemi grubu: Seminifer tübül lümeninde çok sayıda olgun sperm hücreleri görülüyor.
E- ASTA+ İ/R grubu: Seminifer tübül lümeninde çok sayıda olgun sperm hücreleri görülüyor.
F- ASTA grubu: Kontrol grubuna benzer seminifer tübül görülüyor.



Şekil 20 . Deney gruplarının ışık mikroskopik görüntüleri (HE) (40X)

- A- **Kontrol grubu:** Normal yapıda seminifer tübül görülüyor.
 B- **İskemi grubu:** Hasarlanmış seminifer tübül görülüyor.
 C- **İ/R grubu:** Atrofik tübül (★), hasarlanmış tübüller ve damar konjesyonu (⇨) görülüyor.
 D- **ASTA+ İskemi grubu:** Seminifer tübül lümeninde çok sayıda olgun sperm hücreleri görülüyor.
 E- **ASTA+ İ/R grubu:** Seminifer tübül lümeninde çok sayıda olgun sperm hücreleri görülüyor.
 F- **ASTA grubu:** Kontrol grubuna benzer seminifer tübül görülüyor.



Şekil 21. Deney gruplarının ışık mikroskopik görüntüleri (PAS-H) (20X)

A- **Kontrol grubu:** Normal yapıda seminifer tübüller ve bazal membran görülüyor.

B- **İskemi grubu:** Bazal membran ayrılmaları (→) görülüyor.

C- **İ/R grubu:** Bazal membran ayrılmaları (→) görülüyor.

D- **ASTA+ İskemi grubu:** : Bazal membran ayrılmaları (→) görülüyor.

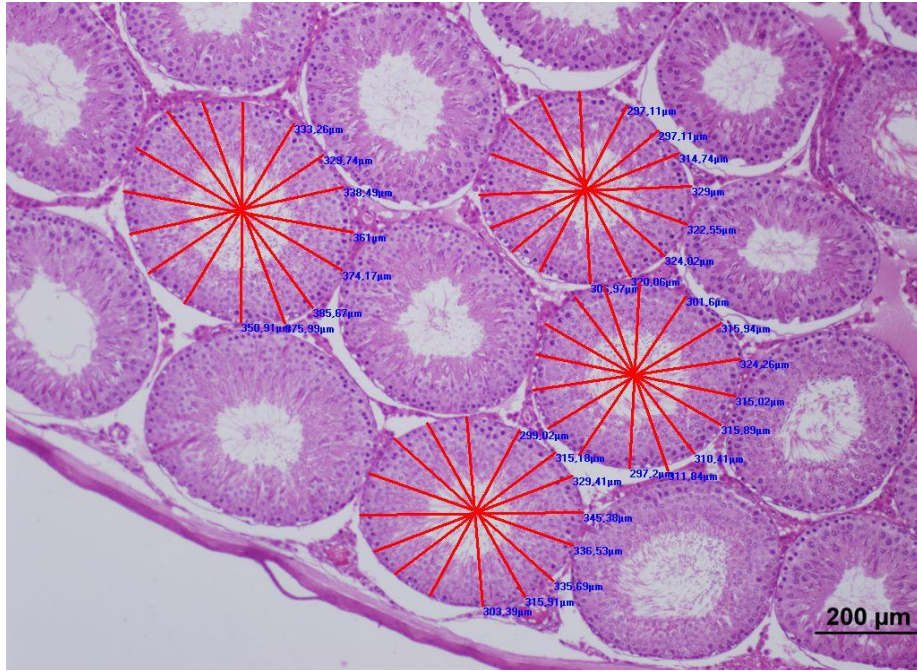
E- **ASTA+ İ/R grubu:** : Bazal membran ayrılmaları (→) görülüyor.

F- **ASTA grubu:** Kontrol grubuna benzer seminifer tübüller ve bazal membran görülüyor.

4.2. İstatistiksel Bulgular

4.2.1. Seminifer tübül çapı ölçümü

Tüm deney gruplarıdaki seminifer tübül çapı ölçümü 10X büyütmede 8 noktadan olmak üzere bilgisayarlı Görüntü İşleme ve Analiz programında (Bs200Pro) otomatik olarak yapıldı (Şekil 22).

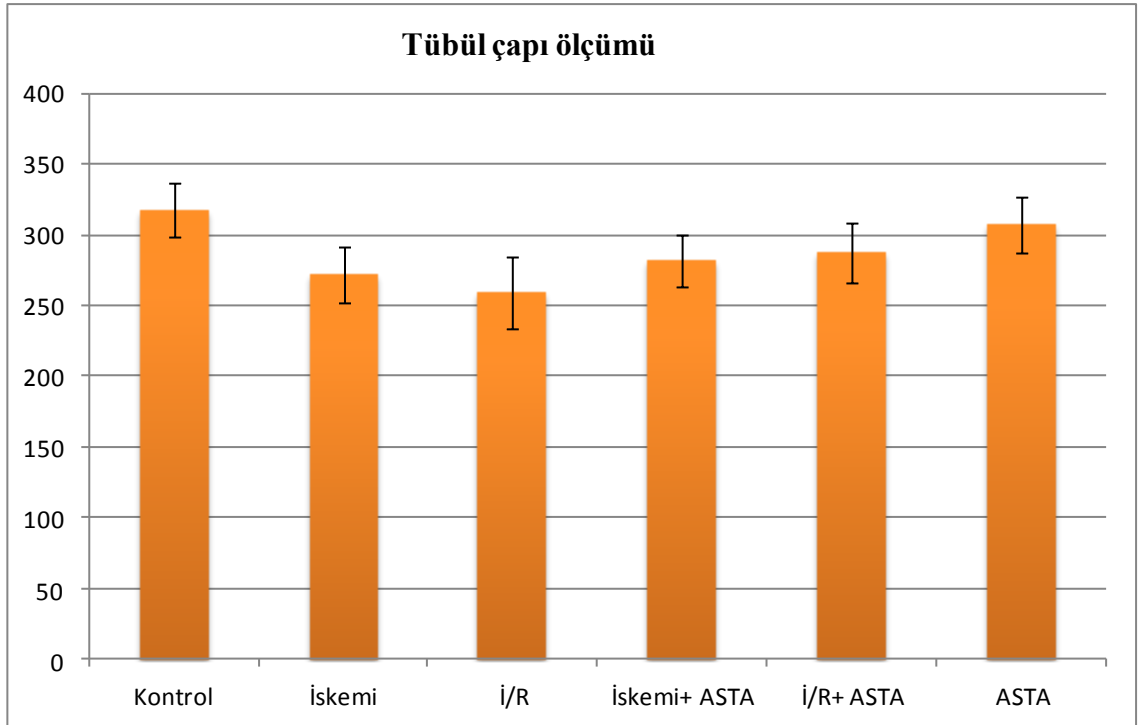


Şekil 22 . Tübül çapı ölçümü görüntüsü

Tablo 5: Kontrol, İskemi, İ/R, ASTA+ İskemi, ASTA+İ/R ve ASTA grubunu oluşturan sıçanların tübül çapı ölçümü yönünden Kruskal- Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks analizi sonuçları.

Gruplar	n	Ortalama değer ± Standart sapma
Kontrol	7	317,58 ± 19,08
İskemi	7	271,41 ± 19,54
İ/R	7	259,03 ± 25,74
ASTA + İskemi	7	282,38 ± 18,36
ASTA + İ/R	7	287,47 ± 20,59
ASTA	7	307,39 ± 20,17

n (deney hayvanı sayısı)



Şekil 23. Testis tübül çapı ölçümü sonuçları

Tablo 6: Kontrol, İskemi, İ/R, ASTA+ İskemi, ASTA+İ/R ve ASTA grupları arasında tübül çapı ölçümü yönünden Tukey testi sonuçları.

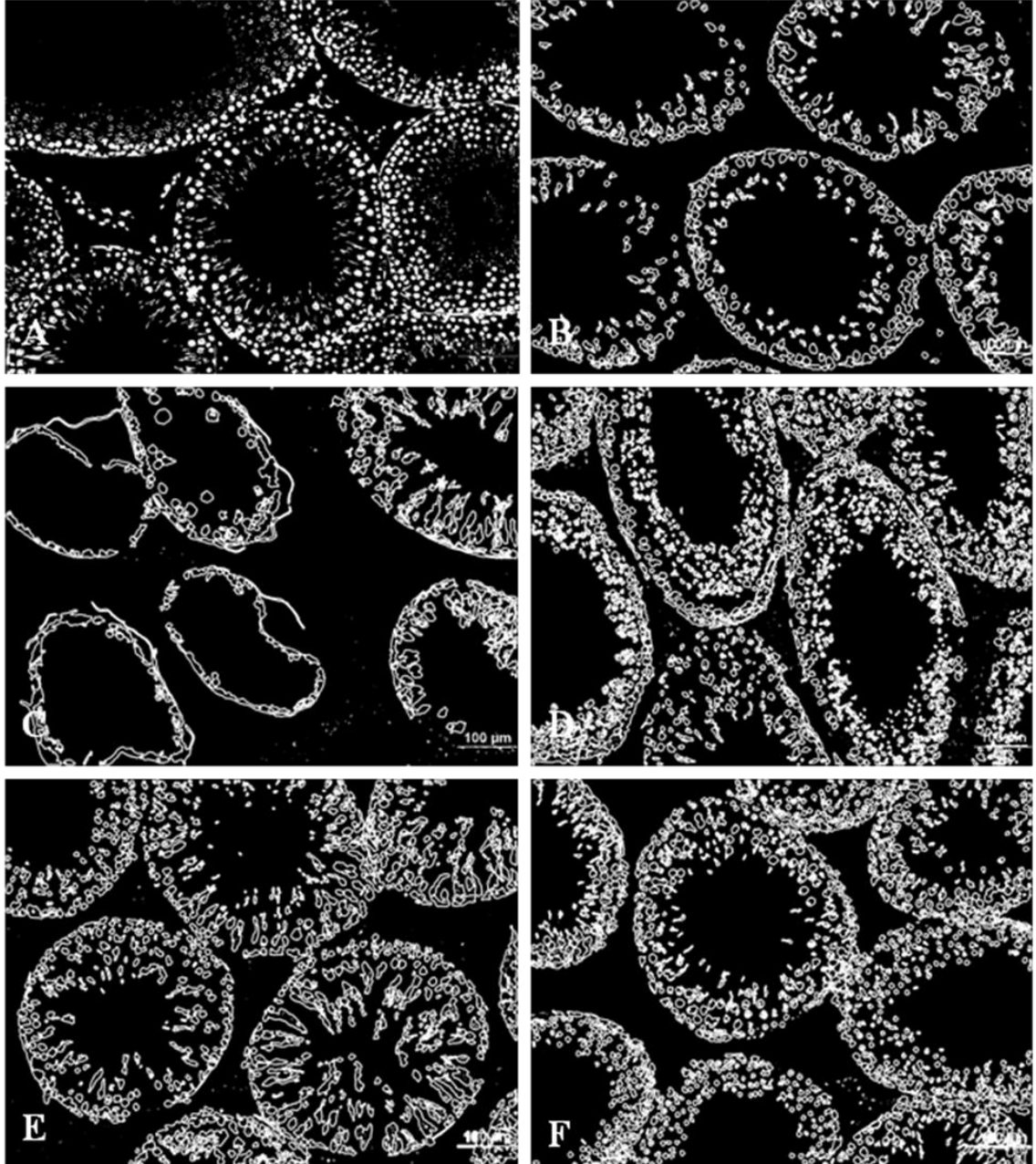
	Kontrol	İskemi	İ/R	ASTA+ İskemi	ASTA+ İ/R	ASTA
Kontrol	—	p<0,001***	p<0,001***	p<0,001***	p<0,001***	p<0,001***
İskemi	—	—	p<0,001***	p<0,001***	p<0,001***	p<0,001***
İ/R	—	—	—	p<0,001***	p<0,001***	p<0,001***
ASTA+ İskemi	—	—	—	—	p<0,240 ^{ns}	p<0,001***
ASTA+ İ/R	—	—	—	—	—	p<0,001***
ASTA	—	—	—	—	—	—

(P<0,001 = ***, p<0,01 = **, p<0,05 = * = fark anlamlı) (ns= not significant= fark anlamsız)

Testis tübül çapı ölçümü yönünden ikili karşılaştırma sonuçlarına göre Kontrol grubunda tübül çapı ortalama değeri 317,58 iken İskemi grubunda 271,41'e , İ/R grubunda 259,03'e düşmüştür ve istatistiksel analize göre anlamlı fark bulunmuştur (p<0,001***). ASTA uygulanan İskemi grubunda tübül çapı 271,41'den 282,38'e, İ/R grubunda 259,03'den 287,47'e yükselmiştir ve istatistiksel analize göre anlamlı fark bulunmuştur (p<0,001***). Sonuç olarak tübül çapı ölçümü sonuçlarına göre İskemi ve İ/R'nin dokuda hasar oluşturduğu ve oluşan hasardan ASTA'nın dokuyu önemli ölçüde koruduğu belirlenmiştir (Tablo 5-6, Şekil 23).

4.2.2. Germ Hücre Sayımı Sonuçları

Tüm deney gruplarındaki germ hücreleri 20X büyütmede bilgisayarlı Görüntü İşleme ve Analiz programı (Bs200Pro) kullanılarak sayıldılar (Şekil 24).



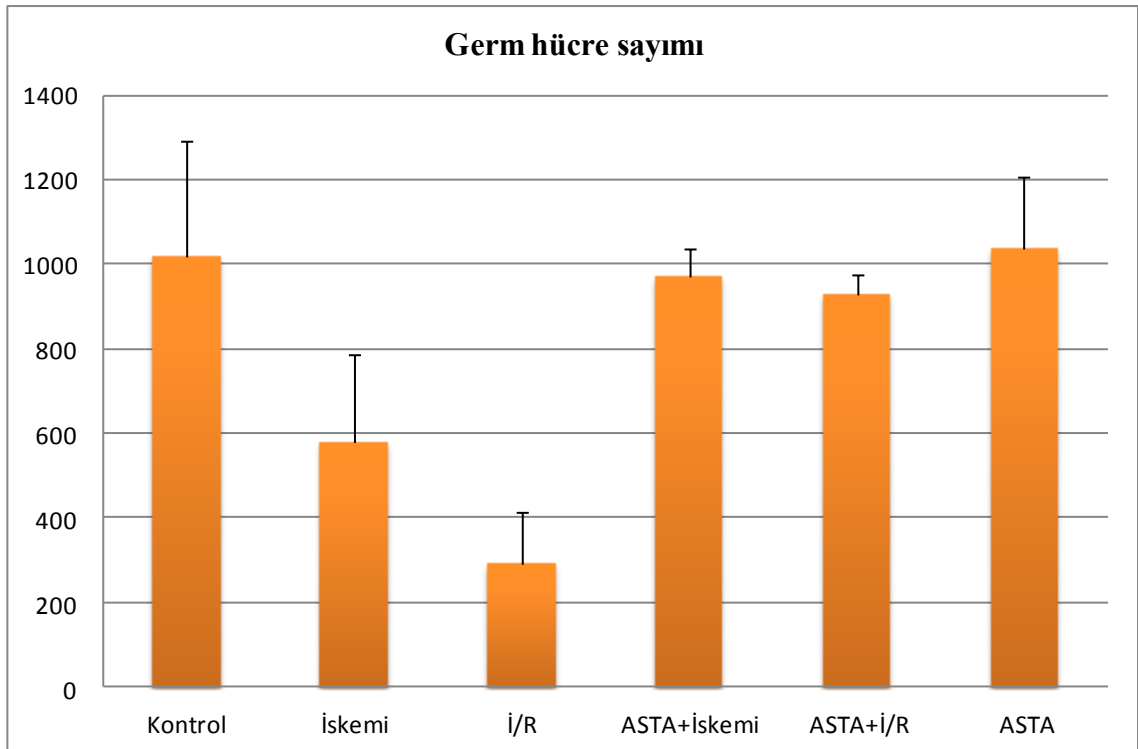
Şekil 24 . Germ hücre sayımı görüntüleri

A.Kontrol grubu, B. İskemi grubu, C. İ/R grubu, D. ASTA+İskemi grubu, E. ASTA+İ/R grubu, F. ASTA grubu

Tablo 7. Kontrol, İskemi, İ/R, ASTA+ İskemi, ASTA+İ/R ve ASTA grubunu oluşturan sıçanların **germ hücre sayımı** yönünden Kruskal- Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks analizi sonuçları.

Gruplar	n	Ortalama ± Standart sapma
Kontrol	7	1019 ± 274,67
İskemi	7	578,8 ± 206,05
İ/R	7	288,6 ± 126,54
ASTA+İskemi	7	968,8 ± 69,89
ASTA+ İ/R	7	929,6 ± 47,98
ASTA	7	1037 ± 169,00

n (deney hayvanı sayısı)



Şekil 25. Germ hücre sayımı sonuçları

Tablo 8. Kontrol, İskemi, İ/R, ASTA+ İskemi, ASTA+İ/R ve ASTA grupları arasında **germ hücre sayımı** Tukey testi sonuçları.

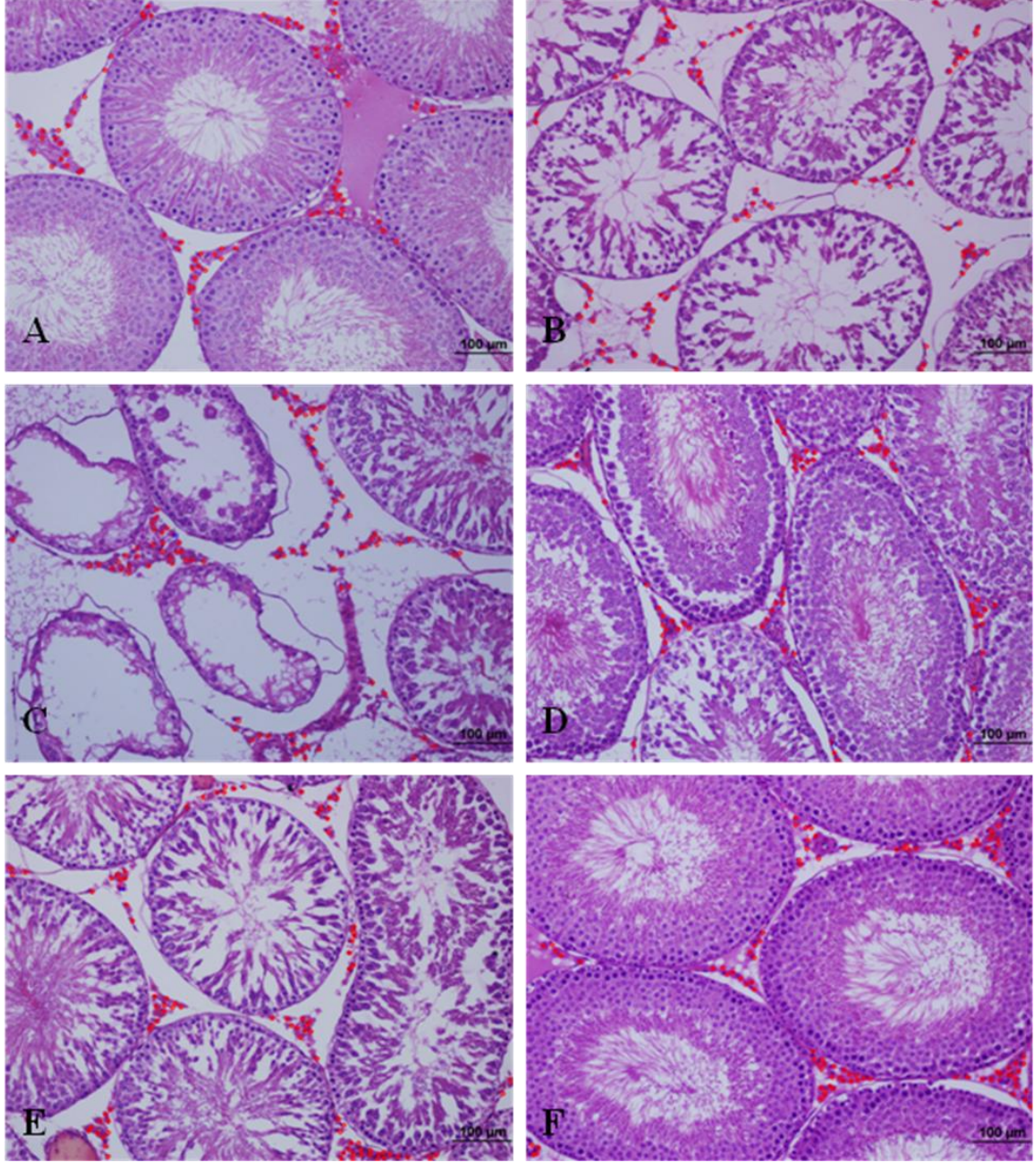
	Kontrol	İskemi	İ/R	ASTA+ İskemi	ASTA+ İ/R	ASTA
Kontrol	—	p<0,004**	p<0,000***	p<0,997 ^{ns}	p<0,957 ^{ns}	p<1,000 ^{ns}
İskemi	—	—	p<0,106 ^{ns}	p<0,014*	p<0,032*	p<0,003**
İ/R	—	—	—	p<0,000***	p<0,000***	p<0,000***
ASTA+ İskemi	—	—	—	—	p<0,999 ^{ns}	p<0,987 ^{ns}
ASTA+ İ/R	—	—	—	—	—	p<0,910 ^{ns}
ASTA	—	—	—	—	—	—

(P<0,001 = ***, p<0,01 = **, p<0,05 = * = fark anlamlı) (ns= not significant= fark anlamsız)

Germ hücre sayımı yönünden ikili karşılaştırma sonuçlarına göre Kontrol grubunda germ hücre sayımı ortalama değeri 1019 iken İskemi grubunda 578,8'e, İ/R grubunda 288,6'e düşmüştür ve istatistiksel analize göre fark anlamlı bulunmuştur (sırasıyla p<0,004**, p<0,000***). Germ hücre sayımı ortalama değeri ASTA uygulanan İskemi grubunda 578,8'den 968,8'e, ASTA uygulanan İ/R grubunda 288,6'den 929,6'e yükselmiştir ve istatistiksel analize göre fark anlamlı bulunmuştur (sırasıyla p<0,014*, p<0,000***). Bu sonuçlara göre İskemi ve İ/R gruplarında kontrol grubuna göre ağır hasar olduğu ve oluşan hasardan ASTA'nın dokuyu önemli ölçüde koruduğu belirlenmiştir (Tablo 7-8, Şekil 25).

4.2.3. Leydig Hücre Sayımı Sonuçları

Tüm deney gruplarındaki Leydig hücreleri 20X büyütmede bilgisayarlı Görüntü İşleme ve Analiz programı (Bs200Pro) kullanılarak sayıldılar (Şekil 26).



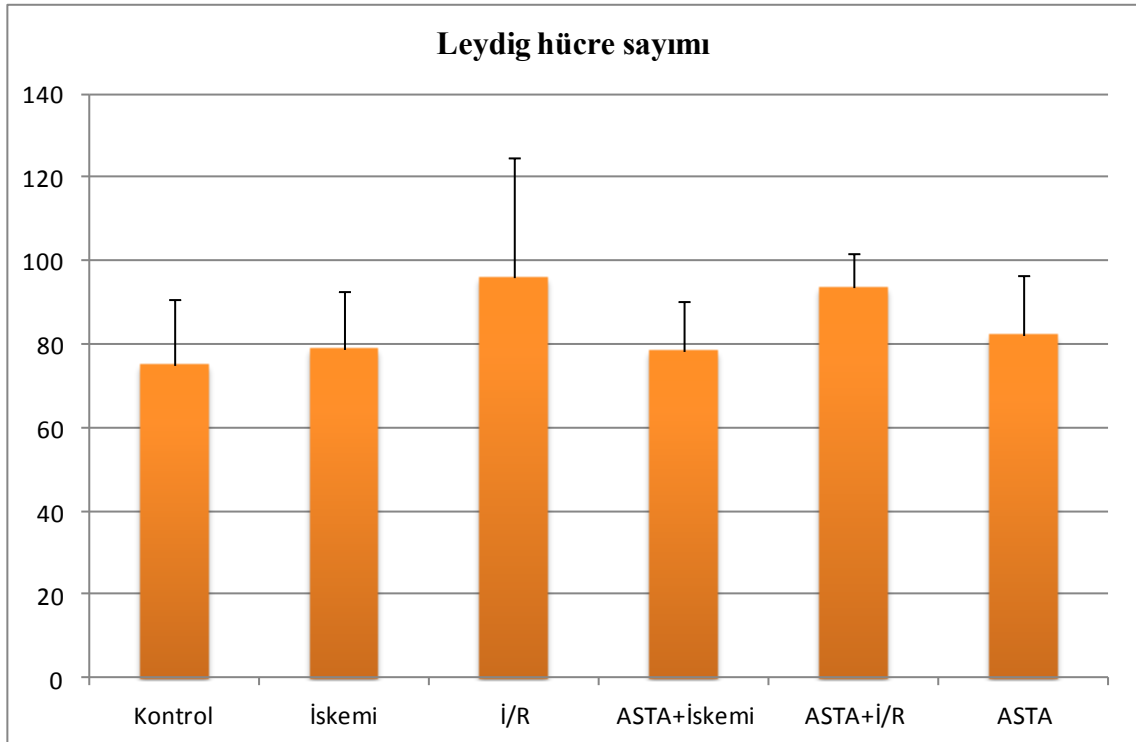
Şekil 26. Leydig hücre sayımı görüntüleri

A.Kontrol grubu, B. İskemi grubu, C. İ/R grubu, D. ASTA+İskemi grubu, E. ASTA+İ/R grubu, F. ASTA grubu (kırmızı noktalar; sayılan Leydig hücreleri)

Tablo 9. Kontrol, İskemi, İ/R, ASTA+ İskemi, ASTA+İ/R ve ASTA grubunu oluşturan sıçanların **Leydig hücre sayımı** yönünden Kruskal- Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks analizi sonuçları.

Gruplar	n	Ortalama ± Standart sapma
Kontrol	7	75,2 ± 15,40130
İskemi	7	79 ± 13,69306
İ/R	7	96,2 ± 28,62167
ASTA+İskemi	7	78,4 ± 12,05404
ASTA+ İ/R	7	93,8 ± 8,228
ASTA	7	82,4 ± 14,31084

n (deney hayvanı sayısı)



Şekil 27. Leydig hücre sayımı yönünden karşılaştırma sonuçları

Leydig hücre sayımı yönünden ikili karşılaştırma sonuçlarına göre tüm grupların arasındaki fark anlamsız gözlenmiştir (Tablo 9-10, Şekil 27).

5. TARTIŞMA

Testis torsiyonu, testisin spermatik kordunun kendi eksenini etrafında dönmesi sonucu testis kan akımının bozulmasıdır (37, 84). Torsiyonun nedeni olarak, testisin skrotuma inişinin ve gubernakulumun skrotum duvarına fiksasyonunun tam olmaması sorumlu tutulmaktadır. Torsiyonun derecesi ve süresi arttıkça testiküler fonksiyonlarda bozulmaya yol açan, bir ürolojik acil problem olarak ortaya çıkar (49, 60, 69). Deneysel çalışmalarda torsiyon sonrasında karşı tarafta da kan akımı azalmakta ve torsiyon ortadan kalktığında karşı taraftaki kan akımı normale dönmektedir (55).

Testiküler T/D nedeniyle oluşan İ/R, testiküler hasara neden olmaktadır. İskemi sırasında oksijen miktarının metabolik ihtiyaçlara oranla düşük seviyede olması, hücresel enerji depolarındaki azalma ve toksik metabolitlerin birikimine bağlı olarak germ hücre ölümü gerçekleşir (76).

İskemi doku hasarına sebep olurken şaşırtıcı bir şekilde reperfüzyon sonucu meydana gelen hasar daha fazladır. Oysa dokularda kan akımının tekrar başlaması sonucu iskemik dokuda bir iyileşme olması beklenir. İskemiye takiben gelişen reperfüzyon hasarının asidoz, sistemik şok ve subendotelyal hemorajik nekrozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (27).

Literatürde testiste oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine çok sayıda çalışma yer almaktadır (4, 8, 9, 25, 27, 95). Biz çalışmamıza başlarken sürelerle ilgili bir ön çalışma yaptık ve kaynaklardaki bilgileri de değerlendirerek tek taraflı ve sol testiste olmak üzere iskemi için gerekli torsiyon derecesi olan 720° ile 4 saatlik torsiyon (iskemik grup) ve 2 saatlik detorsiyon (reperfüzyon grubu) süresini çalışmamızda uygun gördük.

Azizollahi ve arkadaşları, sıçanlarda testiküler T/D sonrası oluşan İ/R hasarı üzerine dopamin ve C vitamininin etkilerinin incelendiği çalışmalarında sol testise 4 saat iskemi ve 4 saat reperfüzyon uygulandığında spermatogenezde ve seminifer tübül

çaplarında önemli bozukluklara neden olduğu gözlemiştir. Tübül çapı ölçümlerinde de İ/R grubunun diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar çıkmıştır. Yalnız C vitamini, yalnız dopamin ve C vitamini+dopamin uygulanan gruplar incelendiğinde C vitamininin oluşan hasar üzerine daha etkili olduğunu belirlemiştir (9).

Sugiyama ve arkadaşlarının da benzer şekilde deneylerinde, sıçan testisine 4 saat iskemi ve 4 saat reperfüzyon uyguladıklarında oluşan I/R hasarının Epigallocatechin Gallata ile düzeldiğini belirlemiştir (95).

Aydiner ve arkadaşları deneysel testiküler torsiyon modelinde 4 saat torsiyon ve 4 saat detorsiyon uygulanmışlar ancak oluşan hasarlar üzerine N-asetilsistein'in yararlı bir etkisinin olmadığını göstermişlerdir (8).

Dağlar ve arkadaşlarının testis torsiyonuyla ilgili çalışmalarında kullandıkları Diklofenak'ın oluşan hasarı önlemede olumlu etkileri olduğu belirlenmiştir (25).

Duman A., sıçanlarda testis İ/R hasarında 3',4'-Dihidroksiflavonol'ün lipid peroksidasyona etkisinin araştırıldığı çalışmalarında 3',4'-Dihidroxyflavonol'ün torsiyonda oluşan doku hasarına karşı koruyucu etkisi olduğunu belirlemiştir. Ayrıca spermatogenetik aktiviteyi skorladıklarında İ/R uygulanan grup ile diğer gruplar arasında anlamlı derecede fark olduğu görülmüştür (27).

Arda E.'nin, E vitamini ve koenzim Q10'un ile yapılan çalışmasında İ/R'de koruyucu etki göstererek hasarı önlediği belirlenmiştir (4).

ASTA' da çok kuvvetli bir antioksidandır ve beyin,karaciğer, üreme sistemi gibi çeşitli çalışmalarda kullanılmaktadır. ASTA'nın beyinde kan-beyin bariyerini geçebiliyor oluşu özellikle beyin iskemisi üzerine yapılan çalışmalarda çok tercih edilmiş ve olumlu sonuçlar alınmıştır (7, 23, 61, 62, 70, 91, 102).

Lu ve arkadaşları in vivo beyin merkezli iskemi ve in vitro H₂O₂ 'nin nörotoksisitesi üzerine yaptıkları çalışmalarında, ASTA'yı iskemiden 1 ve 5 saat önce olmak üzere 2 defa verdiklerinde ASTA'nın koruyucu olduğunu belirlemişlerdir (62).

Tripathi ve Jena yapmış oldukları çalışmada sıçan karaciğerinde siklofosfamidin neden olduğu hasarda ASTA'nın toksik maddeden 3 gün önce uygulanmaya başlanması ve 4. gün toksik madde verilerek yaptıkları deneylerinde ASTA'nın karaciğerde koruyucu olduğunu görmüşlerdir (102).

ASTA vücut sıcaklığı, beyin sıcaklığı, serebral kan akışı, kan basıncını, kan pH'sı gibi fizyolojik parametreleri düzenleyemez fakat beyin dokusunda oksidatif stresi, glutamat salınımını ve apoptozisi azaltabilir. Nitekim Lee D.H. ve Arkadaşları, Shen H. ve Arkadaşları, genç sıçanlarda oluşturdukları iskemik beyin hasarının ASTA ile azaltılabildiğini göstermişlerdir. Ancak Alzheimer ve Parkinson gibi nöral dejenörasyonlarda olumlu etkilerinin ortaya konması için daha ileri düzey çalışmalar yapılması gerekmektedir (61, 91).

Augusti ve arkadaşları, civa kloridin böbreklerdeki oksidatif doku hasarı ve böbrek fonksiyonları bozukluklarının ASTA ile düzeltilebildiğini göstermişlerdir (7).

Curak ve arkadaşlarının, ASTA'nın karaciğerde oluşturulan İ/R hasarı üzerindeki etkilerini incelemek amacı ile yaptıkları çalışmalarında İ/R uygulamasından önce 14 gün boyunca ASTA verildiğinde İ/R'nin karaciğerde oluşturduğu oksidatif hasarı önlediğini göstermişlerdir (23).

Nakajima ve arkadaşlarının ise retinal hücrelerde SOR'un sebep olduğu oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı üzerine ASTA'nın koruyucu etki yapması nedeniyle retinal bozukluklarda tedavi edici ilaç olarak kullanılabileceğini önermişlerdir (70).

ASTA'nın antioksidan olarak üreme sisteminde ve özellikle infertilitede olumlu etkiler yapmaktadır (20, 21, 48, 68, 103). Biz de çalışmamızda erişilmesi kolay ve güçlü bir antioksidan olması nedeniyle ASTA'yı tercih ettik.

Mora ve arkadaşları, ASTA'nın gonad gelişimi ve oosit maturasyonu üzerine olumlu etki yaparken (68), benzer bir çalışmada da Jang H.Y. ve Arkadaşları, ASTA'nın in vitro embriyo gelişimini arttırdığını belirlemişlerdir. ASTA'nın aynı zamanda apoptozisi önleyebildiğini de vurgulamışlardır (48).

Comhaire ve arkadaşları, ASTA'nın insandaki infertiliteye etkisiyle ilgili olarak yaptıkları çalışmalarında 30 infertil erkeğe 3 ay boyunca diyet yoluyla uygulamışlar ve ASTA'nın Sertoli hücreleri tarafından inhibin B salgılanmasını artırarak sperm parametreleri ve fertilité üzerine olumlu etkileri olduğunu görmüşlerdir (20).

Comhaire and Decleer'in çalışmalarında da infertil çiftlerde ASTA'nın, sperm morfolojisini iyileştirmekle kalmayıp aynı zamanda sperm miktarını ve motilitesini önemli ölçüde arttırdığını belirlemişlerdir (21).

Tripathi ve Jena'nın çalışmasında Cyclophosphamide ile oluşturulan testis hasarında 5 hafta boyunca haftada 5 gün oral yolla verilen ASTA'nın sperm sayısı, sperm başı morfolojisi, seminifer tübül çapı ve germ hücre sayısında görülen bozuk tabloda dolayısıyla testis hasarında belirgin bir düzelme olduğunu göstermişlerdir (103). Kaynaklardan da anlaşılacağı gibi ASTA'nın hasarlı üreme sisteminde belirgin olumlu etkiler yaptığı görülmektedir.

Kaynaklarda iskemi/İR etkilerinin incelenmesinde genellikle tübül çapının ölçümlerinin yapıldığını görmekteyiz (25, 75, 95). Bizim çalışmamızda da benzer yöntemler kullanılmış olmakla birlikte bunlara ilaveten sayısal veriler elde etmek için özellikle germ hücreleri ve Leydig hücre sayısı ile ilgili morfometrik analiz de uygulanmıştır.

Çalışmamızda torsiyon ve detorsiyon uygulamasından sonra özellikle spermatogenezin bütünlüğünün bozulduğu dolayısıyla germ hücrelerinin de oldukça ağır hasara uğradığı görülmektedir. Bu bulgulara ilaveten bir diğer tablo da tübül çaplarındaki farklılıklardır. Deney grupları ile kontrol grubu arasındaki ölçüm değerleri farklı olup istatistiksel olarak da anlamlı çıkmıştır.

Ayrıca testisin önemli endokrin hücresi olan Leydig hücrelerinin çalışmamızda uygulanan torsiyon/detorsiyon süreleri dahilinde ve ışık mikroskopik düzeyde belirgin bir hasara uğramadığı görüldü. Ancak literatür araştırmasına göre İskemi-İ/R ile ilgili yapılan çalışmalarda daha önce Leydig hücre sayımı yapılmadığından önemli bir düşüş meydana gelip gelmediğine bakmak için Leydig hücre sayımı yapmayı tercih ettik.

ASTA'nın germ hücre hasarı üzerine koruyucu etki yapması ve fertilitiyi arttırdığı yönünde çalışmalar olmakla birlikte bu antioksidanın infertilite tedavisinde kullanımı için daha geniş çaplı çalışmalara gereksinim olduğu anlaşılmaktadır (20, 21, 103, 104).

Sonuç olarak; çalışmamızdaki tüm veriler değerlendirildiğinde ASTA'nın torsiyon ve detorsiyonla oluşan hasardan testisi büyük oranda koruduğu belirlenmiş olup verilerimizin kaynaklarla uyumlu olduğu görülmüştür.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- a.** Çalışmamızda uygulanan testis T/D sonucunda oluşan İ/R hasarı testis dokusunda önemli hasarlar oluşmuştur. En ağır hasar germ hücrelerinde görülmektedir.
- b.** Deneyde uygulanan doz ve sürelerdeki ASTA'nın testiste oluşan hasarlar üzerine özellikle iskemik grupta daha fazla koruduğu ancak bu etkinin İ/R grubunda daha az olduğu görüldü.
- c.** T/D hasarını belirlemek amacıyla yapılan morfolometrik analizlere göre:
 - 1.** Tübül çapı ve ölçümlerinin İ/R grubunda İskemi grubuna göre daha fazla azaldığı gözlenmiştir.
 - 2.** Germ hücre yoğunluğunun İ/R grubunda İskemi grubuna göre daha fazla azalmıştır.
 - 3.** Leydig hücre yoğunluğunun ise etkilenmediği gözlenmiştir.
- d.** İskemi/İR işlemine başlamadan önce deneklere ASTA verilmesi durumunda oluşan hasarın önlenebildiği görüldü.
- e.** Sonuç olarak; Çalışmamızda ASTA'nın T/D sonucu gelişen İ/R hasarından testisi önemli ölçüde koruduğu belirlenmiş olmakla birlikte bu antioksidantın özellikle infertilite tedavide kullanılması için ileri düzey çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Akgür, F.M., Kılınç, K., Aktuğ, T., 1993, Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion, Urol Res, 21: 395 p.
2. Aksoy, H., Yapanoglu, T., Aksoy Y., Ozbey, I., Turhan, H., Gursan, N., 2007, Dehydroepiandrosterone treatment attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion in rats, Arch toxicol, 81(9):655-663 p.
3. Anafarta, K., Bedük, Y., Arıkan, N., 2007, Temel Üroloji, 3. Baskı, Güneş tıp yayınevi, 17 s.
4. Arda, E., 2012, Testis İskemi Reperfüzyonunda Vitamin E Ve Koenzim Q10'un Koruyucu Rolü, Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, 74 s (yayımlanmamış).
5. Arıncı K. ve Elhan A., 2006, Anatomi, Güneş Kitabevi, 1. Cilt, Ankara, 330-332 s.
6. Astorg, P., 1997, Food carotenoids and cancer prevention an overview of current research, Trend food science and technol., 12(8), 406-413 p.
7. Augusti, P.R., Conterato, G.M.M., Somacal, S., Sobieski, R., Spohr, P.R., Torres, J.V., Charao, M.F., Moro, A.M., Rocha, M.P., Garcia, S.C. and Emanuella, T., 2008, Effect of Astaxanthin on Kidney Function Impairment and Oxidative Stress Induced by Mercuric Chloride in Rats, Food and Chemical Toxicology, 46(1):212-9 p.
8. Aydıner, Ç.Y., Pul, M., İnan, M., Bilgi, S. ve Çakır, E., 2012, Deneysel testiküler torsiyon modelinde N-asetilsistein doku hasarını önlemede rol oynayabilir mi?, Cumhuriyet Med J, 34:462-471 s.
9. Azizollahi, S., Babaei, H., Derakhshanfar, A. and Oloumi M.M., 2009, Effects of co-Administration of Dopamine and Vitamin C on Ischemia- Reperfusion Injury After Experimental Testicular Torsion-Detorsion in Rats, Andrologia, 43(2):100-5 p.
10. Backhouse, K.M., 1982, Embriology of testicular descent and maldescent, Urol Clin North Am, 9:315 p.
11. Bağdathoğlu, N., Demirbüken, B., 1999, Gıda işlemede karotenoidlerde meydana gelen gelişmeler, Gıda, 9: 48-51 s.
12. Barada, J.H., Weingarten J.L., Cromie, W.J, 1989, Testicular salvage and age-related delay in the presentation of testicular torsion, J Urol, 142:746-8 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

13. Bartsch,G., Frank, S., Marberger, H., Mikuz, G., 1980, Testicular torsion late results with special regard to fertility and endocrine function, J Urol, 124:375 p.
14. Bast, A., Haenen, G.R., Doelman, C.J., 1992, Oxidants and antioxidants: state of the art, Am J Med , 91(3): 2-13 p.
15. Becher, E.J., Turner, T.T., 1995, Endocrine and exocrine effects of testicular torsion in the prepubertal and adult rat, J Androl, 16:342-51 p
16. Bourne, H.H., Lee, R.E., 1975, Torsion of spermatic cord and testicular appendages, Urology 5: 73-75 p.
17. Cadenas, E., 1995, Mechanisms of oxygen activation and reactive oxygen species detoxification, In: Ahmad S. (ed.), Oxidative stress and antioxidant defences in biology, New York: Chalpman and Hall, 4-47 p.
18. Cay, A., Alver, A., Küçük, M., Işı, O., Eminağaoğlu, M.S., Karahan, S.C., Değer, O., 2006, The effects of N- acetylcysteine on antioxidant enzyme activities in experimental testicular torsion, J. Surg. Res., 131(2), 199-203 p.
19. Choi, H.D., Kang, H.E., Yang, S.H., Lee, M.G. and Shin W.G., 2010, Pharmacokinetics and First-Pass Metabolism of Astaxanthin in Rats, Br J Nutr , 105(2):220-7 p.
20. Comhaire, F.H., El Garem, Y., Mahmoud, A., Eertmans, F. and Schoonjans, F., 2005, Combined conventional/antioxidant "Astaxanthin" treatment for male infertility: a double blind, randomized trial., Asian J Androl, (3):257-62 p.
21. Comhaire, F.H. and Decler, W., 2012, Beneficial Effect of food supplementation with the nutraceutical improve fort he treatment of infertile couple, Andrologia, 44(6):401-4 p.
22. Cummings, P.R., Boullier, J.A., Sekhon, D., Bose, K., 2002, J Urol, 167: 2109-2110 p.
23. Curak, G.D., Cort, A., Yucel, G., Demir, N., Ozturk, S., Elpek, G.O., Savas, B. ve Aslan, M., 2009, Effect of Astaxanthin on Hepatocellular Injury Following Ischemia/Reperfusion, Toxicology, 267(1-3):147-53 p.
24. Cuzzocrea, S., Riley, D.P., Caputi, A.P., Salvemini, D., 2001, Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury, Pharmacol Rev, 53: 135-59 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

25. Dağlar, Z., Günşar, C., Neşe, N., Şencan, A., Yılmaz, Ö., Genç, A., Taneli, C. ve Mir E., 2009, Diklofenak'ın deneysel testis torsiyonundaki etkileri, Çocuk Cerrahisi Dergisi, 23(1):4-9 p.
26. Dere, F., 1988, Anatomi Ders Kitabı, Adana, Cilt 1-2.
27. Duman A., 2011, Sıçanlarda Testis İskemi-Reperfüzyon Hasarında 3',4'-Dihydroxyflavonol'un Lipid Peroksidasyona Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, 59 s (yayımlanmamış).
28. Elekos, M., Asbach, H., Markou, S., 1988, Etiology of the acute scrotum with regard to distribution, J Urol, 139:1023 p.
29. Elmore, J., Becher, J.R., ve Terry, T., 1995, Turner: Endocrine and exocrine effects of testicular torsion in the prepubertal and adult rat, Journal of Andrology, 16(4).
30. Fawcett, D.W. at Jensh, R.P., 2002, Concise histology, arnold publisher, 2. Edition, New York.
31. Fonkalsrud, E.W., 1987, Testicular undescend and torsion, Pediatr Clin North Am, 34(5):1305-17 p.
32. Ganong, W.F., 1995, Ganong Tıbbi Fizyoloji, (Çev.: Doğan, A.), Barış Kitapevi, İstanbul.
33. Gartner L. P. and Hiatt J. L., 2001, Color Textbook of Histology, Pennsylvania, USA, 2. Edition, 487-494 p.
34. Gershon, D., 1999, The mitochondrial theory of aging: Is the culprit a faulty disposal system rather than indigenous mitochondrial alterations? , Exp Gerontol, 34: 613-619 p.
35. Gillenwater, J.Y., Grayhack, J.T., Howards S.S. and Duckett, J.W., 1991, Adult and Pediatric Urology, Mosby Year Book, USA, 2. Edition, 2195-2200 p.
36. Gok, V. Kayacier, A. ve Telli, R., 2006, Hayvansal ve mikrobiyal kaynaklı antioksidanlar, Gıda teknolojileri dergisi (2), 35-40 s.
37. Guyton, A.C. and Hall, J.E., 1996, Textbook of medical physiology, Harcourt Brace, 9th ed.
38. Gürsoy, E. ve Koptagel, E., 1997, Embriyoloji Atlası, Esnaf Ofset Matbaacılık, İstanbul, 149-152 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

39. Halliwell, B., 1990, How to characterize o biological antioxidant, Free Radic Res Commun, 9(1): 1-32 p.
40. Hassa, H., 2003, İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuvar Uygulamaları, Osmangazi Üniversitesi Basımevi, Eskişehir, 1. Baskı, 87, 127-137s.
41. Hou, G., Xiong, W., Wang, M., Chen, X. and Yuan, T.F., 2013, Cronic Stress Influences Sexual Motivation and Causes Damage to Testicular Cells in Male Rats, J Sex Med , 11(3):653-63 p.
42. http://www.algatech.com/products-item.asp?cat=001 &scat=001_006
43. <http://anatomytopics.wordpress.com/2009/01/04/the-anatomy-histology-and-development-of-the-testis-epididymis-and-ductus-deferens/>
44. <http://www.aninatural.com/pages.php?pageid=6>
45. <http://www.kimyaevi.org>
46. <http://legacy.owensboro.kctcs.edu/gcaplan/anat2/notes/APIINotes2%20male%20reproductive%20anatomy.htm>
47. Hutson, J.M., 1998, Undecended Testis, Torsion and Varicocele, (Eds: O'Neill J.A., Rowe M.I., Grosfeld J.L., Fonkalsrud, E.W., Coran, A.G.), Pediatric Surgery, St. Louis: Mosby, vol.2, 5th ed, 1087-1109 p.
48. Jang H.Y., Ji S.J., Kim Y.H., Lee H.Y., Shin J.S., Cheong H.T., Kim J.T., Park I.C., Kong H.S., Park C.K. and Yang B.K., 2010, Antioxidative Effects of Astaxanthin against Nitric Oxide Induced Oxidative Stress on Cell viability and Gene Expression in Bovine Oviduct Epithelial Cell and the Developmental Competence of Bovine IVM/IVF Embriyos, Reprod Domest Anim, 45(6): 967-74 p.
49. Jeffrey, A., Leslie, Mark, P., 2006, Pediatric Urologic Emergencies and Urgencies Pediatr Clin N Am, 53: 513-27 p.
50. Junqueira, L.C. ve Carneiro, J., 2009, Temel Histoloji, (Çev: Solakoğlu S. ve Aytekin Y.) Nobel Tıp Kitabevleri, onyedinci baskı, 418-428 s.
51. Kayalı, H., Şatıroğlu, G. ve Taşyürekli, G., 1992, İnsan Embriyolojisi, Alfa Basım Yayım Dağıtım, İstanbul, 7. Baskı.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

52. Keislinger, V.J., Schroder, D.E., Paulijev, P., Hull, J., 1984, Spermatic cord bloc and manual reduction: primary treatment for spermatic cord torsion, J Urol , 132: 921-923 p.
53. Kierszenbaum, A.L., 2006, Histoloji ve Hücre Biyolojisi, (Çev: Demir R.), Palme Yayıncılık, 398, 531-544 s.
54. Koc, A., Narci, A., Duru, M., Gergerlioglu, H.S., Akaydin, Y., Sogut, S., The protective role of erdosteine on testicular tissue after testicular torsion and detorsion, Mol.Cell Biochem., 2005, 280(1-2):193-9 p.
55. Kollettis, P.N., Stowe, N.T., Inman, S.R., 1996, Acute spermatic cord torsion alters the microcirculation of the contralateral testis, J Urol , 155:350-4 p.
56. Köksal, M., Işık O., Uslu, L. ve Mutlu, Y., 2012, Işık Sıcaklık Besin Eksikliği ve Havalandırmanın Haematococcus pluvialis Flotow'da Büyüme ve Astaksantin Miktarına Etkisi, Journal of Fisheries Sciences, 6(4):297-305 p.
57. Köseoğlu, B., Yılmaz, E., Ceylan, K., Uzun, E., Bayram, İ. and Hızlı, F., 2009, The protective effect of erythropoietin infusion on testicular torsion/detorsion: an experimental study, Int Urol Nephrol, 41(1):85-91 p.
58. Krarup, T., 1978, The testes of torsion, Br J Urol, 50:43-6 p.
59. Larsen, W.J., 2003, Human Embryology, Churchill Livingstone, 3. Edition.
60. Leape, L.L., 1990, Testicular torsion, Pediatric Urology (Eds: Ashcraft, K.W.), Philadelphia, W.B. Saunders, 1556-1558 p.
61. Lee, D.H., Lee Y.J. ve Kwon, K.H., 2010, Neuroprotective Effects of Astaxanthin in Oxygen-Glucose Deprivation in SH-SY5Y Cells and Global Cerebral Ischemia in Rat, Universty of Pittsburgh, USA, Gwangju University, South Korea, J Clin Biochem Nutr , 47(2):121-9 p.
62. Lu, Y.P., Liu, S.Y., Sun, H., Wu, X.M., Li, J.J. and Zhu, L., 2010, Neuroprotective Effect of Astaxanthin on H₂O₂ - Induced Neurotoxicity in Vitro and on Focal Cerebral Ischemia in Vivo, Brain Res , 11;1360:40-8 p.
63. McAngrew, H.F., Pemberton, R., Kikiros, S.C. et al, 2002, The incidence and investigation of acute scrotal problems in children, Pediatric Surg Int , 18, 435-437 p.
64. Melekos, M., Asbach, H., Markou, S., 1988, Etiology of the acute scrotum with regard to distribution, J Urol, 139:1023 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

65. Melloul, M., Paz, A., Lask, D., 1995, The value of radionuclide scrotal imaging in the diagnostic of acute testicular torsion, Br J Urol , 72: 628-631 p.
66. Menteşe, A., Türkmen, S., Karagüzel, E., Karaca, Y., Tath, Ö., Uzun, Sümer, A., Yulug, E. and Turedi, S., 2012, The Predictive Value of Ischemia-modified Albumin in Long-term Results of Ischemia-reperfusion Injury in an Experimental Testicular Torsion Model, Urology, 80(3):689-94 p.
67. Moore, K.L. ve Persaud, T.V.N., 2009, Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi, (Çev: Dalçık H. ve Yıldırım M.), Nobel Tıp Kitabevleri, 8. Baskı, 263-265 s.
68. Mora G.I., Arredondo-Figueroa J.L., Barriga-Sosa Ide L., Bazan-Arias J., Vernon-Carter J., 2004, Effect of the dietary incorporation of caretenoid pigments on gonad development and oocyt maturity in females of rainbow trout, Arch. Latinoam Nutr., 54, 235-240 p.
69. Murphy, J.P., 2003, The acute scrotum, (Ed: Ziegler.,M.M., Azizkhan, R.G., Weber, T.R.), Operative Pediatric Surgery, McGraw-Hill Companies, New York, 563-568 p.
70. Nakajima, Y., Inokuchi, Y., Shimazawa, M., Otsubo, K., Ishibashi, T. and Hara, H., 2008, Astaxanthin, a Dietary Carotenoid, Protects Retinal Cells Against Oxidative Stress in-vitro and in Mice in-vivo, J Pharma Pharmacol, 60(10):1365-74 p.
71. Noske, H.D., Kraus, S.W., Altinkilic, B.M., Weidner, W., 1998, Historical milestones regarding torsion of the scrotal organs, J Urol , 159: 13-16 p.
72. Odar, I.V., 1986, Anatomi, Hacettepe Kitapçılık Ltd. Şti.
73. Olaizola, M., Huntley, M.E.,2002, Recent advances in commercial production of Astaxanthin from microalgae (Eds: Fingerman, M., Nagabhushanam, R.), Biomaterials and Bioprocessing, Enfield, NH: Science Publishers.
74. Ovalle, W.K., Nahirney, P.C., Netter, F.H. ve Chovan, J., 2009, Netter Temel Histoloji, (Çev: Müftüoğlu, S., Kaymaz, F. ve Atilla, P.), Güneş Tıp Kitabevleri, 486 s.
75. Ozbal S., Ergur B.U., Erbil, G., Tekmen, I., Bağrıyanık, A. ve Cavdar, Z., 2012, The Effects Of A-Lipoik Acid Against Testicular Ischemia- Reperfusion Injury In Rats, Scientific World Journal, 489248, 8 p.
76. Palmer, J.S., Cronie, W.J., Plazak, L.F. et al, 1997, A Platelet activating factor antagonist attenuates the effects of testicular ischemia, J Urol , 158: 1186-90 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

77. Pentyala, S., Lee, J., Yalamanchili, P., Vitkun, S. et al, 2001, Testicular torsion: A review, J Low Urin Tract Dis, 5(1):38-47 p.
78. Prater J.M. and Overdorf B.S., 1991, Testicular torsion: a surgery emergency, Am Fam Physician, 44:834-4.
79. Rigby, H.M., Howard, R.J., 1907, Torsion of the testes, Lancet, 1:1415-21 p.
80. Ringdahl, E., Teague, L., Testicular torsion, Am Fam Physician, 2006, 74(10):1739-1743 p.
81. Robinowitz, R., 1984, The importance of the cremasteric reflex in acute scrotal swelling in children, J Urol, 132: 89-90 p.
82. Ross, M.H., Kaye, G.I. and Pawlina, W., 2011, Histology A Text and Atlas, Lippincott Williams &Wilkins, 4. Edition, 792- 796 p.
83. Rowe,M.I., Grosfeld, J.L.at al (eds), Pediatric Surgery, Mosby, St. Louis, 1087-1109 p.
84. Rowe, M.I., 1995, Testis torsion, Essentials of Pediatric Surgery, St. Louis: Mosby-Year Book Inc, 457-459 p.
85. Sade, M., Esen, A., Çelebi, İ., Mungan, U., 1998, Ürogenital sistemin acil yaklaşım gerektiren hastalıkları, Göğüş, O., Anafarta, K., Bedük, Y., Arıkan, N., (Eds), Temel Üroloji, Güneş Kitabevi, Ankara, 963 s.
86. Sadler, T.W., 2011, Langman Medikal Embriyoloji (Çev: Başaklar A.C.), Palme Yayıncılık, Onbirinci basım, 385 s.
87. Salmasi, A.H., Beheshtian, A., Payabvac-sh, S., Demehri, S., Ebrahimkhani, M.R., Karizmadegan, M., Bahadori, M., Pasalar, p., Dehpour, A.R., 2005, Effect of morphine on ischemia/reperfusion injury: experimental study in testicular torsion rat model, J. Urology, 66(6):1338-42 p.
88. Sancak, B. ve Cumhuri, M., 2004, Fonksiyonel Anatomi, Odtü Yayıncılık, 3. Basım, Ankara, 291-293 s.
89. Scorer, C.G., Farrington, G.H., 1971, Congenital Deformities of the Testis and Epididymis, New York, Apleton-Century-Crofts.
90. Seeley, R.R., Stephens, T.D. and Tate, P., 1999, Essential of Anatomy and Physiology, 3. Edition

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

91. Shen, H., Kuo C.C., Chou, J., Delvolve, A., Jackson, S.N., Post, J., Woods, A.S., Hoffer, B.J., Wang, Y. and Harvey, B.K., 2009, Astaxanthin Reduces Ischemic Brain Injury in Adult Rats, *FASEB J*, 23(6):1958-68.
92. Shunkla, R.B., Association of cold weather with testicular torsion, *Br Med J*, 1982, 285:1459-60 p.
93. Solomon, E.P., 1999, İnsan Anatomisi ve Fizyolojisine Giriş, Birol Basım Yayın, İstanbul, 2. Basım, 274 s.
94. Steinbrenner J. and Linden H., 2001, Regulation of Two Carotenoid Biosynthesis Genes Coding for Phytoene Synthase and Carotenoid Hydroxylase during Stress-Induced Astaxanthin Formation in the Green Alga *Hematococcus pluvialis*, *Plant Physiol*, 125(2):810-7 p.
95. Sugiyama, A., Chiba, M., Nakagami, T., Kawano, S., Sanada, Y., Tajiri, T. and Toki, A., 2012, Beneficial Effects of (-)-Epigallocatechin Gallate on Ischemia- Reperfusion Injury in Rats, *J Pediatr Surg.*, 47(7):1427-32 p.
96. Şeftalioğlu, A., 1998, Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi, Tıp ve Teknik Yayıncılık Ltd. Şti., Ankara, 3. Basım.
97. Tanagho, E., W.Mcaninch, J., 2000, In the disorders of the testes, scrotum and spermatic cord, *Smith's General Urology* (Eds: Foltin, J., Lebowitz, H., Roche, J.) Lange Medical Books/McGraw-Hill Companies, 687 p.
98. Tijoe, D.Y., Steinberger, E., A quantitative study of the effect of ischemia on the germinal epithelium of the rat testes, 1970, *J Reprod Fert*, 21:489 p.
99. Tinkler, J. H., Bohm, F., Schalch, W., Photochem J., Photobiol B., and Truscott, T.G., 1994, Dietary carotenoids protect human cells from damage, 26, 283-285 p.
100. Torrissen, O.J., Christiansen, R., 1995, Requirements for carotenoids in fish diets, 11, 225-230 p.
101. Torrissen, O.J., Hardy, R.W. and Shearer, K., 1989, Pigmentation of Salmonids – Carotenoid Deposition and Metabolism, *CRC Cr Rev Aq Sci.*, 1, 209-225 p.
102. Tripathi D.N. and Jena G.B, 2008, Astaxanthin Inhibits Cytotoxic And Genotoxic Effects Of Cyclophosphamide In Mice Germ Cells, *Toxicology*, 27; 248(2-3): 96-103 p.
103. Tripathi, D.N. and Jena, G.B., 2009, Astaxanthin intervention ameliorates cyclophosphamide-induced oxidative stress, DNA damage and early hepatocarcinogenesis in rat: Role of Nrf2, p53, p38 and phase-II enzymes, *Mutat Res*, 696(1):69-80 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

104. Vidhyavathi, R., Venkatachalam, L., Sarada, R. and Ravishankar, G.A., 2008, Regulation of Carotenoid Biosynthetic Gene Expression and Carotenoid Accumulation in the Green alga *Hematococcus pluvialis* under nutrient stress conditions, *J Exp Bot* , 59(6):1409-18 p.
105. Walsh, P.C., 2005, *Campbell Üroloji*, (Çev: Anafarta M.K. ve Yaman M.Ö.), Güneş Kitabevi, 8. Basım, 2. Cilt, 1506 -1507 s.
106. Williamson R.C.N., 1976, Torsion of the testis and allied conditions, *Br J Surg*, 63:465 p.
107. Yeşilayer, N., Doğan, G. ve Erdem, M., 2008, Balık Yemlerinde Doğal Karotenoid Kaynaklarının Üretimi, *Journal of Fisheries*, 2(3):241-251 p.
108. Yıldırım, M., 1999, *İnsan Anatomisi*, Tayt Ofset, İstanbul, 4. Baskı.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Embiye ÇOLAK
Doğum tarihi ve yeri : 17.02.1988 - Bulgaristan
Uyruğu : TC
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri : embiyeclk@hotmail.com

Eğitim Durumu

2012-2014 : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi Histoloji-Embriyoloji ABD (Yüksek Lisans)

2007-2011 : Bozok Üniversitesi Fen Fakóltesi Biyoloji Bölümü (Lisans)

2002-2006 : Süleyman Çelebi Lisesi (YDA)

1999-2002 : Ovaakça İlköğretim Okulu

1996-2002 : Başaran İlköğretim Okulu

1994-1996 : Ovaakça İlköğretim Okulu

Yabancı dili : İngilizce

Bilimsel Etkinlikler

2009 Bursa Halk Sağlığı Laboratuvarı Müdürlüğü, 1 ay Staj

2010 Soranus Tüp Bebek Merkezi, 1 ay Staj

2011 Bursa ekirge Devlet Hastanesi, 2 hafta Staj

2012 ESOGÜ Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, Eskişehir