

771665

T.C.  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

VARİKOSEL TESPİT EDİLEN ERKEKLERDE  
PERİFERİK VENDE VE TESTİKÜLER VENDE REAKTİF  
OKSİJEN ÜRÜNLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

DR. MUSTAFA KARALAR

TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. M. MURAT ŞAMLI

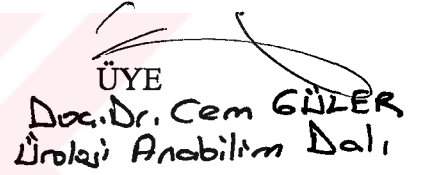
AFYONKARAHİSAR 2006

İşbu çalışma jürimiz tarafından ÜROLOJİ ANABİLİM DALI'nda TIPTA  
UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN  
Prof. Dr. Alim KOŞAR  
Üroloji Anabilim Dalı



ÜYE  
Prof. Dr. Osman Nuri DİLEK  
Genel Cerrahi Anabilim Dalı



ÜYE  
Doc. Dr. Cem GÜLER  
Üroloji Anabilim Dalı



ÜYE  
Doc. Dr. Serap DEMİR  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı



ÜYE  
Yrd. Doc. Dr. Emre TÜZEL  
Üroloji Anabilim Dalı

ONAY



DEKAN  
Prof. Dr. Mustafa SOLAK

Bu araştırmanın gerçekleştirilmesinde değerli katkıları bulunan başta tez danışmanım olan Doç. Dr. M. Murat şamlı'ya, Üroloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Cem Güler'e, Üroloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Murat Demirbaş'a ve Yard. Doç. Dr. Emre Tüzel'e, Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Tülay Köken'e, bölümümüz mensubu asistan arkadaşlarıma, her zaman yanımda olan aileme ve sevgili eşim Ecz. ağrı Karalar'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

I-GİRİŞ	1
II-GENEL BİLGİLER	2
2.1. VARİKOSEL	2
2.2. SERBEST RADİKALLER	11
2.2.1. LİPİD PEROKSİDASYONU VE İSKEMİ İLE İLİŞKİSİ	11
2.2.2. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNE KARŞI SAVUNMA SİSTEMLERİ	14
2.2.3. GLUTATYON	16
2.2.4. İSKEMİ/REPERFÜZYON İLE OLUŞAN DOKU HASARI	17
III- GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. HASTALAR	20
3.2. TANI	20
3.3. FİZİK MUAYENE KRİTERLERİ	20
3.4. SEMEN ANALİZİ	21
3.5. DOPPLER KRİTERLERİ	21
3.6. EK TESTLER	22
3.7. OPERASYON	22
3.8. BİYOKİMYASAL ANALİZ	22
3.9. İSTATİSTİK	23
3.10. TAKİP	23
IV- BULGULAR	24
V- TARTIŞMA	27
VI- SONUÇ	37
VII-ÖZET	39
VIII- SUMMARY	41
IX- KAYNAKLAR	43

## TABLolar ÇİZELGESİ

SAYFA

TABLO-I.....	6
Normal spermogram değerleri	
TABLO-II.....	24
Hastaların preoperatif ve postoperatif 3. ay spermogram parametreleri	
TABLO-III.....	25
Çalışılan hastalara ait laboratuvar sonuçları	
TABLO-IV.....	26
Çalışılan parametrelerin ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) değerleri	
TABLO-V.....	31
Varikösel tedavileri: Sonuçların karşılaştırılması	

## ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

	SAYFA
Şekil-1.....	2
Sol skrotumda dilate venler	
Şekil-2.A.....	8
Varikozel onarımında kullanılan insizyonlar	
Şekil-2.B.....	8
Eksternal halkanın hemen altında 2-3 cm'lik bir kesi	
Şekil-3.....	9
Inguinal kesi ve serbestlenmiş kord	
Şekil-4.....	9
Eksternal ve internal spermatic fasya	
Şekil-5.....	10
Askıya alınmış kord ve vaz deferens	
Şekil-6.....	10
Askıya alınmış kord ve 1 adet internal spermatic ven	
Şekil-7.....	13
Lipid Peroksidasyonu Şeması	

## KISALTMALAR DİZİNİ

### KISALTMA

8-OHdG

ATP

CAT

CD

DNA

GPx

GSH

GSSG

GR

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

IVF

NADPH

MDA

NO

O<sub>2</sub><sup>-</sup>

OH<sup>•</sup>

ROS

SD

SOD

XD

XO

### ACIKLAMA

8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin

Adenin Trifosfat

Katalaz

Konjuge Dien

Deoksiribo Nükleik Asit

Glutasyon Peroksidaz

Redükte Glutasyon

Okside Glutasyon

Glutasyon Redüktaz

Hidrojen Peroksit

Invitro Fertilizasyon

Redükte Nikotinamid Adenin

Dinükleotid

Malondialdehid

Nitrik Oksit

Süperoksit Anyonu

Hidroksil Radikali

Serbest Oksijen Radikalleri

Standart Deviasyon

Süperoksit Dismutaz

Ksantin Dehidrogenaz

Ksantin Oksidaz

## I - GİRİŞ

Varikosel, spermatik kord içinde pampiniform pleksusu oluşturan spermatik venlerin dilate ve tortuöz hal alması olarak tanımlanmaktadır. Tedavi edilebilir infertilitenin en sık sebebi varikoseldir. Varikoselin oluşumunda temel mekanizma venöz hidrostatik basınç artışıdır. Vena spermatica interna'nın sağda ve solda farklı drenaj ve anatomik özelliklerinin olması, solda varikoselin daha sık görülmesine neden olmaktadır (1).

Varikosel çeşitli mekanizmalarla testiküler disfonksiyona yol açmaktadır. Son yıllarda varikoselin, artmış serbest oksijen radikali ve azalmış seminal plazma antioksidan kapasitesiyle ilişkisinin olduğunun düşünülmesi birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Serbest oksijen radikalleri, oksijen metabolitleri olup; süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikali ( $\cdot OH$ ), hidroperoksil radikali ve nitrik oksit (NO)'i içerir. Serbest oksijen radikalleri, oksidatif değişikliklerle sellüler lipid, protein ve DNA hasarına yol açar. Çoğu hücre, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimatik antioksidan sistemi ile veya ürik asit, vitamin C, vitamin E ve albumin gibi non-enzimatik antioksidan sistemi ile koruma altındadır (2).

Oksidan ve antioksidan sistemi arasındaki dengenin oksidan sistem lehine bozulduğu durumlarda hücre fonksiyonları olumsuz yönde etkilenir. Özellikle motilitede azalma olmak üzere sperm fonksiyonlarında bozulma meydana gelir (3). Biz de klinik varikosel ile birlikte infertilitesi olan veya olmayan varikoselektomi yapılacak erkeklerde periferik venöz ve testiküler venöz kan örneğinde serbest oksijen radikallerini tespit etmeyi amaçladık.

Serbest oksijen radikallerinin testiküler venöz kan örneğinde yüksek olduğu tespit edilirse, bunu azaltmaya yönelik uygulanacak medikal veya cerrahiyle birlikte medikal tedavi, varikoselin infertilite oluşumundaki etkisini minimale indireceği öngörülebilir.

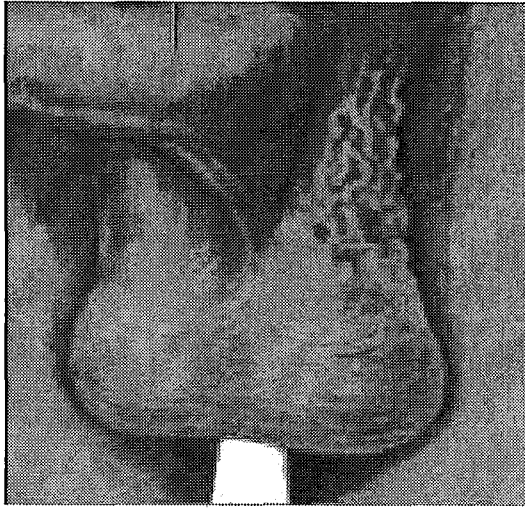


## II - GENEL BİLGİLER

### 2.1. VARİKOSEL:

Varikozel erkek infertilitesinin en sık görülen ve düzeltilebilir nedenleri arasında yer almaktadır. İlk kez Celcus tarafından 1. yüzyılda tanımlanmıştır. Anadolu'da Şerafeddin Sabuncuoğlu, Cerrahiyet'ül Haniye (1483) adlı eserinde varikozeli 'devali' olarak adlandırmış ve hastalığı testis damarlarının bükülüp, üzüm salkımına benzer şekil alması olarak nitelendirmiştir. Ayrıca, aynı eserde hastalığın cerrahi tedavisini de tanımlamıştır.

Varikozel, spermatik kord içinde pampiniform pleksusu oluşturan spermatik venlerin dilate ve tortuöz hal alması olarak tanımlanmaktadır (Şekil-1). Bu dilate venlerin, fizik muayene ile palpabl olduğunun görülmesi ile klinik varikozel, sadece yardımcı tekniklerle tespit edilmesiyle subklinik varikozel tanımları kullanılır. Erken erişkin dönemde prevalansı %15 gibi oranlara çıkan varikozel, 10 yaş altında nadiren tespit edilir. İnfertilite şikayeti ile başvuran erkeklerde bu oran %20-40 oranlarına ulaşmaktadır (4,5).



Şekil-1: Sol skrotumda dilate venler

Tedavi edilebilir infertilitenin en sık sebebi varikoseldir. Sol tarafta görülme oranı yaklaşık %90'dır. Çoğu çalışmada bilateral varikosel görülme oranı %10'lar civarında bildirilmektedir (6-8). Yalnızca sağ tarafta görülme oranı %2'den azdır ve genellikle vena kava inferior yada spermatik vende kompresyona veya obstruksiyona (tromboz) sekonder olarak oluşmaktadır (9). Primer infertilite ile kıyaslandığında sekonder infertilite şikayeti ile başvuranlarda daha sık tespit edilmektedir (7).

Vena spermatica interna'nın sağda ve solda farklı drenaj ve anatomik özellikleri solda varikoselin daha sık görülmesine neden olmaktadır. Sol internal spermatik ven, renal vene dik açıyla drene olurken, sağ internal spermatik ven vena cava inferiora oblik olarak drene olur. Sol internal spermatik ven sağa göre 10 cm. daha uzundur. Solda hidrostatik basınç artışına neden olan bir diğer mekanizmada nutcracker fenomenidir (10). Bu fenomenin 2 tipi vardır. Proksimal tipte (klasik tip) sol renal ven, a. mesenterica superior ile aorta arasında kompresyona uğrayarak internal spermatik vende hidrostatik basınç artışına neden olmaktadır. Distal tipte ise a. iliaca communis, sol v. iliaca communise bası yaparak eksternal spermatik vende hidrostatik basıncı artırır. Varikosel etyolojisindeki bir diğer teori pleksus pampiniformise olan reflüdür (11). Reflüye yol açan iki mekanizma vardır. Bunlardan birincisi v. spermatica internadaki valvlerin yokluğudur. Ahlberg'in 1965 yılında rastgele seçilen 79 kadavrada yaptığı çalışma, sol internal spermatik venin kranial kısmında %46 oranında valv olmadığını göstermiştir (1). Yapılan çalışmalarda valvlerin yokluğunun yada yetersizliğinin solda sağa göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bir diğer mekanizma ise venöz kollaterallerin varlığı halinde kan akımının normal gonadal venöz sisteme olan reflüsüdür. Pleksus pampiniformise kollateral oluşturan başlıca iki venöz sistem vardır. Yüzeysel venöz sistem skrotal, eksternal spermatik, epigastrik, safen ve femoral venleri içerir. Derin venöz sistem ise penil, krural, pelvik, lumbal ve renal venöz sistemi içerir.

Varikosel çeşitli mekanizmalarla testiküler disfonksiyona yol açmaktadır;

1- Çeşitli mekanizmalarla oluşan venöz staz sonucunda testiküler ısıda artış spermatogenezde inhibisyona yol açmaktadır. Normalde skrotal ısı vücut sıcaklığından daha düşüktür. Vücut ısısı ile skrotal ısı arasındaki bu fark varikoseli olan kişilerde azalmıştır. Yapılan çalışmalarda oligozoospermik varikoselli kişilerde, varikoseli olmayanlara göre intraskrotal ısının  $0,6-0,8^{\circ}\text{C}$ , intratestiküler ısının ise  $0,78^{\circ}\text{C}$  daha fazla olduğu gösterilmiştir (12). Varikoselin tek taraflı bulunması halinde bile her iki testiste testiküler ısı artmaktadır. Wright ve arkadaşları 1997 yılında yaptıkları çalışmada varikoseli olanlar hastalarda, kontrol grubuna göre skrotum cildi ısı artışı yüksek bulunmuş ve varikosektomi sonrası ısının kontrol grubuna göre azaldığını tespit etmişlerdir (13).

2- Adrenal gland ve böbreklerden toksik metabolitler retrograd akım sonucunda testise ulaşarak spermatogenezi olumsuz yönde etkileyebilir. Yapılan çalışmalarda varikoselli hastalarda internal spermatik vende katekolamin seviyeleri kontrol gruplarına göre daha yüksek bulunurken kortizol ve renin düzeyleri kontrol grupları ile aynı bulunmuştur (11). Bir diğer çalışmada böbrekten reflü olduğu düşünülen PGE2 ve PGF2 $\alpha$ 'nın internal spermatik ven düzeyleri periferik venöz kana göre daha yüksek bulunmuştur (14). Varikosektomi sonrası semende fosfolipaz A2 düzeyinin önemli derecede azalması bu teoriyi desteklemektedir. PGF2 $\alpha$  hem vazokonstrüksiyon ile testiküler kan akımını azaltarak, hem de testiste LH reseptörlerine bağlanarak hipospermatogeneze yol açmaktadır. Böbrekten reflü ile testise gelen diğer maddeler serotonin, angiotensin 1 ve fosfolipaz A2'dir.

3- Varikosel nedeniyle oluşan venöz staz, intratestiküler hipoksi, pH'da azalma ve pCO $_2$ 'de artmaya neden olarak hipospermatogeneze yol açmaktadır (15).

4- Varikosel nedeniyle hipotalamus-hipofiz-gonad arasında hormonal disfonksiyon vardır. Tedavisi gecikmiş varikosel olgularında testis atrofisi gelişmişse spermatogenik yetmezlik ve GnRH stimülasyonuna cevapta anormallik

görülür. Varikosektomi sonrası GnRH'a cevapta %80 düzelme görülür (16). Varikosektomi Leydig hücre fonksiyonlarında düzelme sağlar ve serum testosteron seviyesinde düzelmeye sebep olur. Serum testosteron seviyesi düşük olan infertil erkeklerde varikosektomi sonrasında testosteron seviyesinde düzelme görülmüştür (17). Adolesanlarda ve özellikle yetişkinlerde olmak üzere varikozel bilateral testiküler boyutta azalma ile ilişkilidir (18).

Normal bir kişide semenin kalitesi günden güne değişebilir ve semen tahlili sonuçları toplama tekniğine çok bağlıdır. Örnek toplanmasından önce cinsel perhiz dönemi bu değişkenliğin en önemli kaynaklarından biridir. Perhizin bir günü (1 haftaya kadar) semen hacmini 0,4ml, sperm konsantrasyonunu 10-15 milyon/ml'e kadar yükseltebilir. Cinsel perhiz süresi 7 günden fazla olursa sperm hareketliliği düşme eğilimi gösterir. Bu nedenle cinsel perhizden 48-72 saat sonra semen toplanması önerilmektedir.

Taze semen, ejakulasyondan 5-30 dakika sonra sıvılaşır (likefaksiyon). Likefaksiyondan sonra semen akışkanlığı ölçülür. Semen iplikleşme göstermemelidir. Tablo I'de normal spermogram değerleri gösterilmiştir. Ejakulat hacmi en az 1,5 ml olmalıdır. Daha düşük miktarlar vajen asiditesini yeterince tamponlayamayabilir. Düşük ejakulat hacmi retrograd ejakulasyon, ejakulatuar kanal obstruksiyonu, yetersiz koleksiyon ve androjen eksikliğine işaret edebilir. Sperm konsantrasyonu > 20 milyon sperm / ml olmalıdır. Sperm hareketliliği hareket eden tüm spermlerin fraksiyonu veya yüzdesi ve sperm hareketinin kalitesi olmak üzere iki yolla değerlendirilir. Sperm hareketliliğinin normal değeri; % 50-60 hareketli ve kalite veya ilerleme skoru 0'ın hiç hareket olmadığı, 4'ün mükemmel olduğu bir skala üzerinden en az 2'dir.

Sperm sitoloji veya morfolojisi semen kalitesinin bir başka ölçütüdür. Sperm başı, orta kısmı ve kuyruğu ile ilgili şekil özellikleri ve kesin boyutlar belirlenirken sperm 'normal' veya 'normal değil' şeklinde sınıflandırılabilir. En titiz sınıflama sisteminde (Kruger morfolojisi) tüm ejakulat içinde spermlerin sadece % 14'ünün gerçekten normal olduğu görünmektedir. Aslında, bu sayı in

vitro ovum fertilizasyonunun başarısıyla uyumlu olduğundan gerçek klinik anlamlılık olarak yorumlanır. İlave olarak, sperm morfolojisi spermin morfolojik özellikleri spermatogenez sırasında belirlendiği için tüm testis sağlığının duyarlı bir göstergesi olarak kabul edilebilir (19).

Tablo-I: Normal spermogram değerleri (WHO:1999)

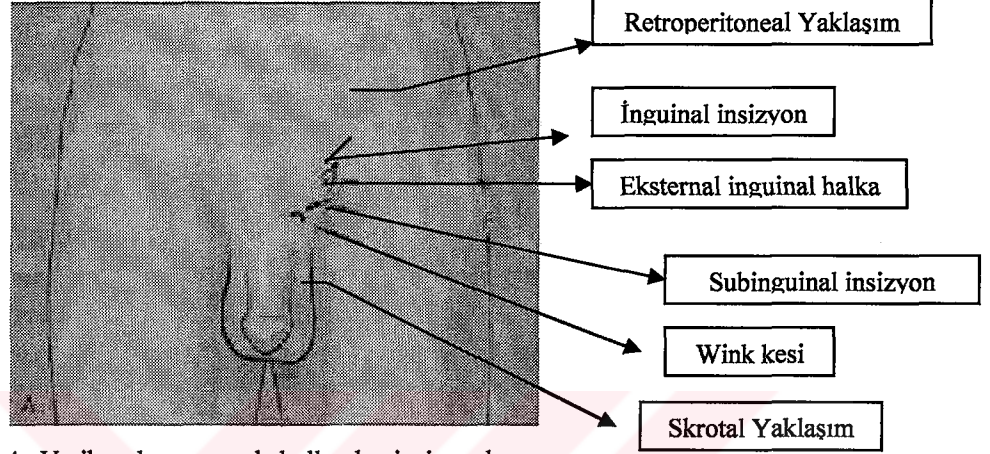
Ejakülat hacmi	> 2 ml
Sperm konsantrasyonu	>20x10 <sup>6</sup> sperm/ml
pH	>7,2
Hareketlilik	> % 50
İleri doğru hareketlilik	2 (skala 1-4)
Morfoloji	%15 WHO
Canlılık	> % 75
Lökosit	< 1 milyon / ml

Varikoseli olan hastaların %90'ında sperm motilitesinde azalma görülürken, %65'inde sperm konsantrasyonu 20 milyon/ml'nin altında bulunur (20). Varikoselin cerrahi onarımından sonra seminal parametrelerde %70 oranında düzelme izlenir (20). Konsepsiyon oranları %40-50 civarına ulaşır (20). Yayınlanmış 15 seriden elde edilen verilere göre, varikosektomi sonrası 2466 infertil hastanın, %66'ında sperm parametrelerinde düzelme izlenmiştir (21). Yapılan bir başka çalışmada varikosektomi sonrasında sperm motilitesi ve sayısı artmış, Kruger kesin kriterlerine göre morfolojide düzelme saptanmıştır (22). Bunun aksine, başka bir çalışmada ise varikosektomi sonrasında sperm motilite ve sayısında artma tespit edilirken, Kruger kesin kriterlerine göre morfolojide değişiklik izlenmemiştir (23).

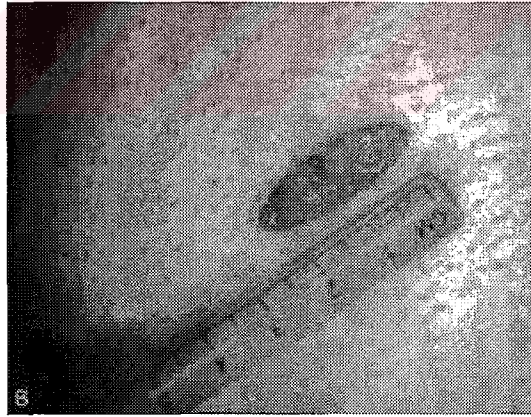
Varikoseli olan erkeklerin çoğunun fertil olması sebebiyle sadece varikosel bulunması cerrahi onarım için bir endikasyon değildir. Varikoselin derecesi her zaman testiküler patoloji ile bağlantılı değildir. Fakat ileri dereceli varikosellerin onarımından sonra semen kalitesinde düzelme daha fazladır (24).

Eşinin değerlendirilmesi tamamlanmış, semen parametrelerinde bozulma olan varikoseli olan erkeklerde cerrahi endikasyon mevcuttur. Varikosel onarımı için skrotal yaklaşım, retroperitoneal, inguinal, subinguinal yaklaşım, laparoskopik yaklaşım veya radyografik oklüzyon teknikleri kullanılabilir (Şekil-2:A-B). Cerrahi yaklaşımlarla kord bulunup eksternal ve internal spermatik fasia açılır (Şekil-3, Şekil-4). Testiküler arter, lenfatikler ve vaz deferens korunarak spermatik venler 4,0 ipek sütür ile iki kez bağlanır ve kesilir (Şekil-5, Şekil-6).

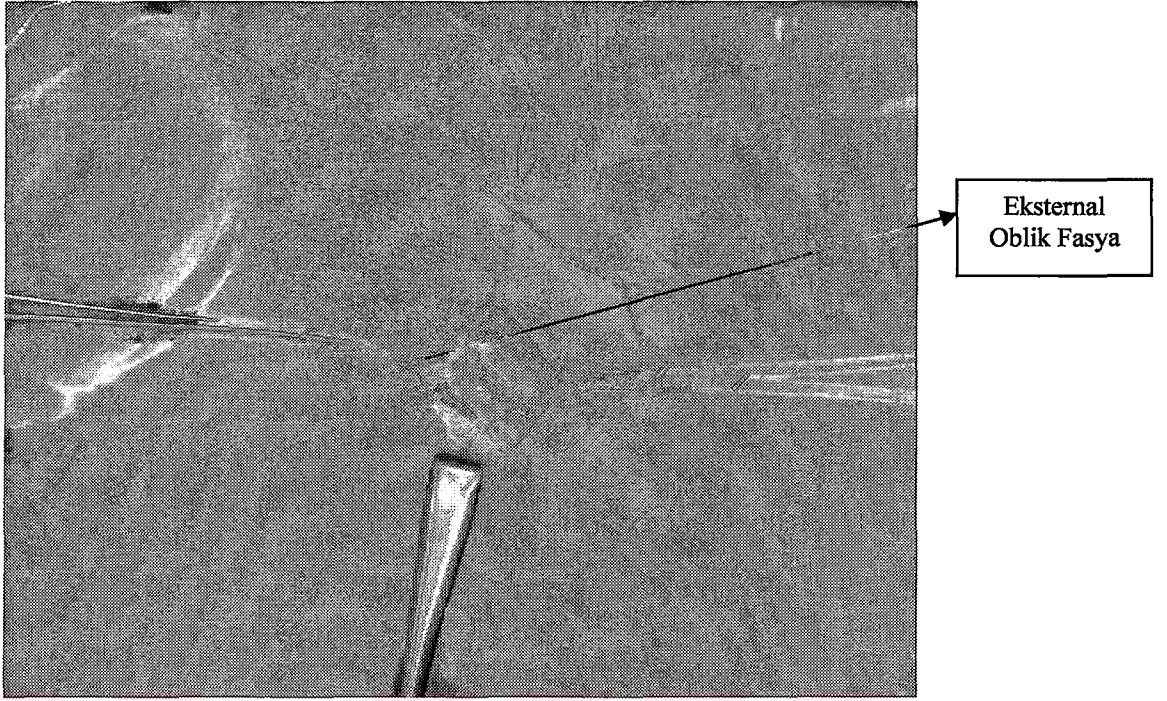




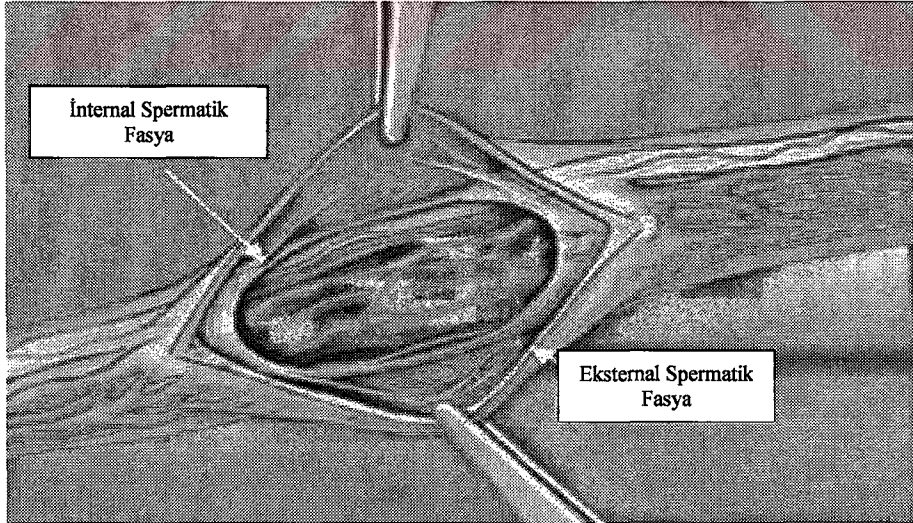
Şekil-2: A- Varikosel onarımında kullanılan insizyonlar



Şekil-2: B- Eksternal halkanın hemen altında 2-3 cm'lik bir kesi



Şekil-3: İnguinal kesi ve serbestlenmiş kord



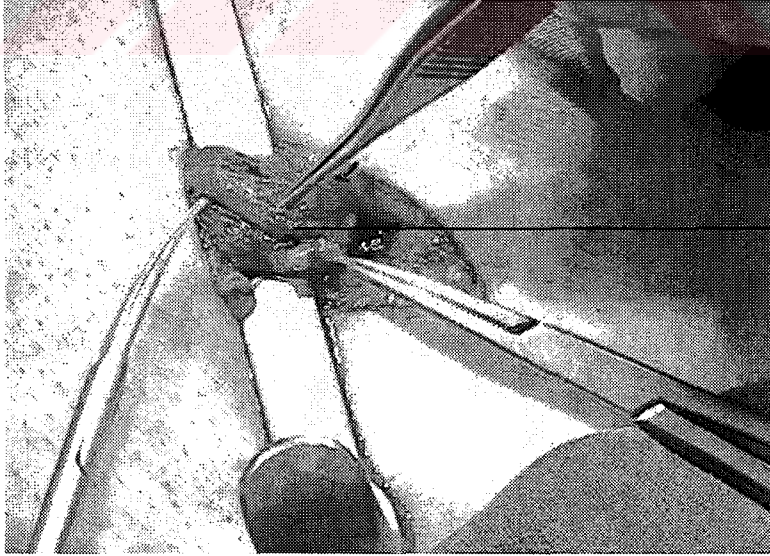
Şekil-4: Eksternal ve internal spermantik fasya





Vaz Deferens

Şekil-5: Askıya alınmış kord ve vas deferens



İnternal  
spermatik ven

Şekil-6: Askıya alınmış kord ve 1 adet internal spermatik ven

Varikoselin, artmış serbest oksijen radikali ve azalmış seminal plazma antioksidan kapasitesiyle ilişkisi birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir (2,3,25).

Serbest oksijen radikalleri ile sperm fonksiyonlarının bozulması arasında bir korelasyon mevcuttur (25). Semendeki serbest oksijen radikallerinin kaynağı spermatazoa ve fagositik lökositlerdir. Serbest radikaller aynı zamanda spermatazoanın kapasitasyonunda, hiperaktivasyonunda ve füzyonunda önemli rol oynarlar. Serbest radikallerin zararlı etkilerini kontrol altına almak üzere seminal plazmada enzimatik ve non-enzimatik defans mekanizmaları mevcuttur. İnfertilite artmış serbest radikal ve azalmış defans sistemi ile ilişkili bulunmuştur.

## **2.2. SERBEST RADİKALLER:**

Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarında çiftleşmemiş elektron taşıyan yapılara verilen isimdir. Bu durumdaki moleküller oldukça reaktif özelliğe sahiptir. Oksijen molekülü de son orbitalinde çiftlenmemiş elektron içeriyorsa süperoksit radikali ( $O_2^-$ ) olarak tanımlanır. Organizmada radyoliz, fotoliz, organik maddelerin termal yıkımı, metal iyonlarının ve enzimlerin katalizlediği redoks reaksiyonları ile radikaller oluşabilir. Radikaller oluşuktan sonra tek elektronlarını bir başka moleküle verebildikleri gibi, bir başka molekülden elektron alıp çift hale gelebilirler ve nonradikal yapılara eklenebilirler. Tüm bu durumlarda nonradikal yapılar, radikalleşerek pek çok türde radikal oluştururlar.

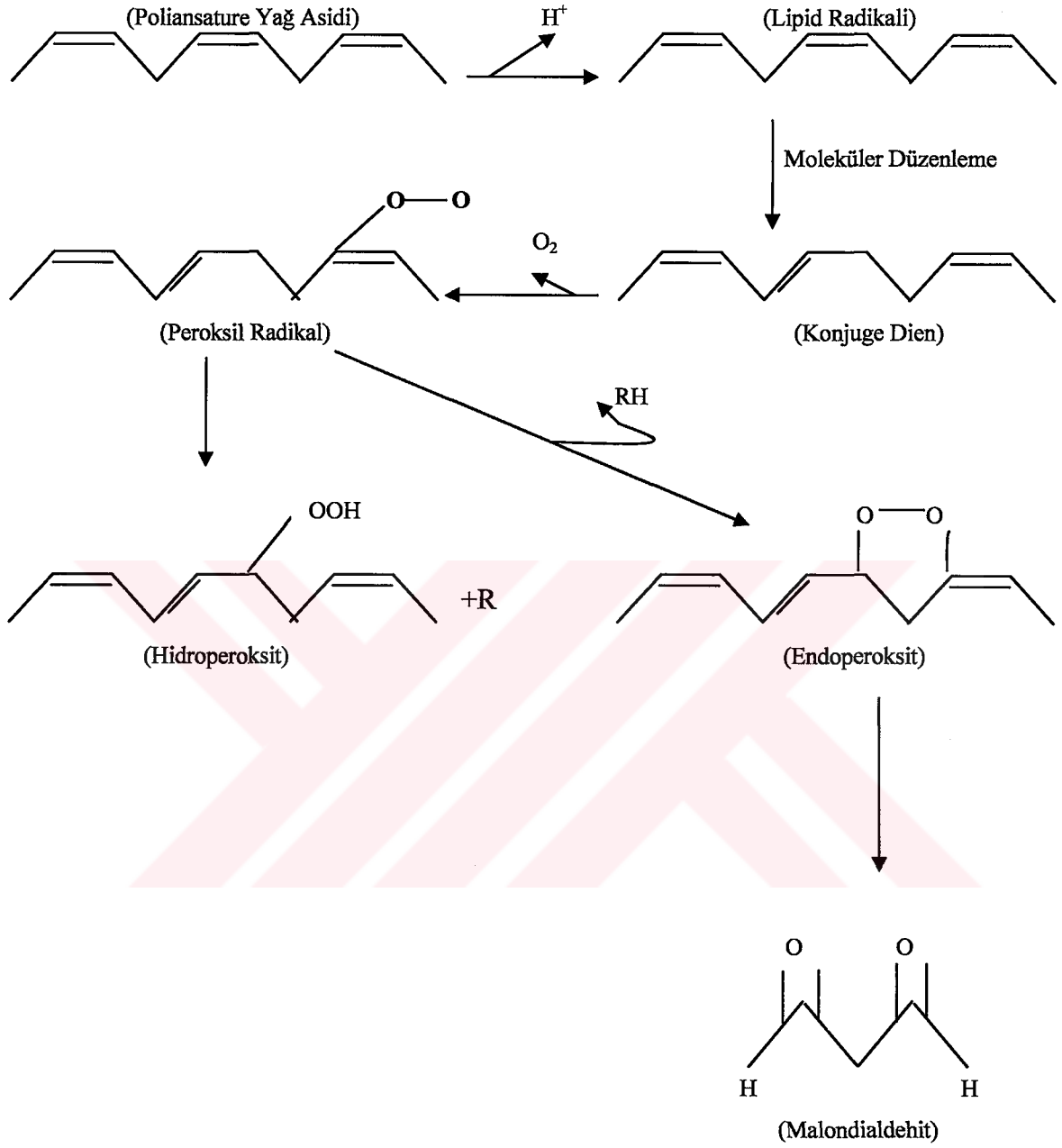
### **2.2.1. LİPID PEROKSİDASYONU VE İSKEMİ İLE İLİŞKİSİ:**

Lipid peroksidasyonu, hücre hasarının başlıca nedenidir ve iskemi dışında ısı, ışık, radyasyon, detoksifikasyon ve hızlı hücre bölünmesi gibi diğer etkenlerle de oluşmaktadır. Biyolojik membranlar, poliansatüre yağ asitleri, oksijen ve metal iyonları yönünden oldukça zengin olduğundan oksidatif hasara açıktır.

Lipid peroksidasyonu başlangıç, ilerleme ve bitiş olmak üzere üç fazda oluşur. Başlangıç döneminde reaktif elemanlar, özellikle hidroksil radikali ve oksijen radikalleri, poliansatüre yağ asitlerinden hidrojen alırlar. Böylece lipid

radikalleri oluşur. Bunlar oksijen ile reaksiyona girerek lipid peroksi radikallerini oluştururlar. Çift bağların tekrar oluşturulmasıyla konjuge dienler (CD) oluşur. İlerleme döneminde zincirleme reaksiyonlar oluşarak yeni radikaller ortaya çıkar. Oksidatif hasar, membranlarda yağ asitlerinin birbirlerini etkileyebilecek kadar yakın yerleşmesinden dolayı komşu yağ asitlerine sıçrar. Bu ilerleme döneminde başlangıcı takip eden binlerce reaksiyon, geniş bir hasar oluşturur. Lipid peroksidasyonu, radikallerin malondialdehide (MDA) dönüşümü ile sonlanır, in vitro membran lipid peroksidasyonunu tespit etmek için MDA düzeyinin ölçülmesi oldukça sık kullanılan bir metottur (Şekil 7). Ancak MDA'nın in vivo şartlarda metabolize olması nedeniyle bu şartlarda ölçülmesi uygun değildir. CD'lerin tespiti daha duyarlı bir yöntem olup hem in vivo hem de in vitro şartlarda kullanılabilir.

Lipid peroksidasyonuna maruz kalan membrandaki poliansatüre yağ asitleri membran yapısını değiştirerek permeabilitenin artmasına ve böylece transport fonksiyonlarının bozulmasına yol açar. Bunun yanında mitokondri membranının geçirgenliğindeki değişim hücre oksidatif fosforilasyonunun bozulmasına, lizozomal membranlardaki geçirgenliğin bozulması da hidrolitik enzimlerin lizozom dışına çıkmasıyla hücre hasarına yol açarlar. Membran üzerindeki peroksidatif hasar hücre içi ve dışı iyon dengelerinde değişime neden olur. İntraselüler  $Ca^{+2}$  konsantrasyonu artarak hücre içinde kalmoduline bağlı intraselüler proteazları aktive eder. Bu yolla hem ksantin dehidrogenazın (XD), ksantin oksidaza (XO) dönüşümünü hem de fosfolipaz  $A_2$ 'i aktive ederek membran lipidlerinden araşidonik asit salınımına yol açarlar. Bu yolla prostaglandin metabolizması, dolayısı ile siklooksijenaz ve lipooksijenaz yolları da aktivite kazanır (26).



Şekil-7: Lipid Peroksidasyonu Şeması

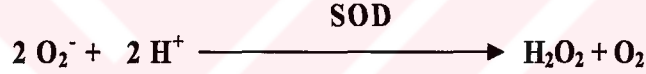
## 2.2.2. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNE KARŞI SAVUNMA SİSTEMLERİ

Hücreler sürekli oksidatif tehditin altında bulunduğundan bu hasara karşı kendilerini koruyacak mekanizmalar geliştirmiştir. Bu mekanizmalar, üç yolla bunu gerçekleştirir:

- 1- Oluşan radikallerin detoksifikasyonu,
- 2- Radikal reaksiyonlarının sona erdirilmesi,
- 3- Radikal oluşumunun sınırlandırılması.

Hücrede oluşan radikaller enzimatik olarak detoksifiye olur. Bunlar süperoksit ve hidrojen peroksiti temizleyen spesifik enzimlerdir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX) bu grup enzimlerdendir.

SOD, süperoksitin hidrojen peroksite dismutasyonunu kataliz eden bir metalloenzimdir.



Süperoksit radikalleri spontan dismutasyona uğramakla beraber SOD bu dismutasyon hızını  $10^4$  kat artırarak daha toksik ürünlerin oluşumunu önler.

Katalaz ve glutatyon peroksidaz  $H_2O_2$ 'i suya dönüştürerek detoksifiye eder. Katalaz, konsantrasyonu değişmekle beraber bütün hücre tiplerinde bulunan ve hem içeren bir enzimdir. Katalaz, düşük hızlarda  $H_2O_2$  oluşumunda veya yüksek elektron donörü konsantrasyonlarında peroksidatif reaksiyon ile;

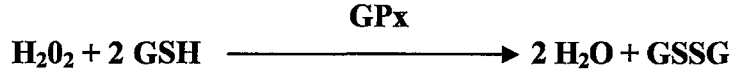


$H_2O_2$  oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda katalitik reaksiyon ile;



hidrojen peroksiti suya dönüştürerek temizler.

Normal koşullarda hücrede oluşan  $H_2O_2$ 'in detoksifikasyonunda esas olarak bir selanoenzim olan GPx fonksiyon görür. GPx'da,  $H_2O_2$ 'i katalitik reaksiyon ile redükte eder. Bu reaksiyonda redükte glutatyon (GSH) önemli role sahiptir. Sonuçta okside glutatyon (GSSG) ile su oluşur.



Antioksidan etkinliğin devam edebilmesi için okside glutatyonun tekrar redükte forma dönüştürülmesi gereklidir. Bu işlem NADPH bağımlı bir enzim olan glutatyon redüktaz tarafından yerine getirilir.



NADPH'nın rejenerasyonu için glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimi gerektiğinden bu enzim de hücre içi antioksidan savunmada rol sahibidir.

Hücrelerin düşük düzeylerdeki  $H_2O_2$  hasarından korunmasında GPx önemli rol oynarken,  $H_2O_2$ 'in oluşumunun arttığı durumlarda katalaz etkinlik kazanır. Katalaz bu görevini peroksizomlarda yaparken, GPx ise sitozol ve mitokondride gerçekleştirir. Ekstraselüler kompartmanda  $H_2O_2$ 'i temizleyen enzim sistemleri yoktur. Ekstraselüler  $H_2O_2$ 'in dolaşımdaki eritrositler tarafından metabolize edildiği kabul edilmektedir.

Antioksidan savunmanın diğer önemli bir kesimini lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını kıran antioksidanlar oluşturur. Bunlar, peroksi (ROO) ve alkoksi (RO) radikaller ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyon reaksiyonlarının ilerlemesini önlerler. Bu savunma başlıca E vitamini tarafından sağlanır.



$\beta$ -karoten, düşük parsiyel oksijen basıncında fonksiyon gören lipofilik bir antioksidandır. Haber-Weiss reaksiyonlarını katalize eden metalleri bağlayan bileşikler de antioksidan özellik gösterir. Bunlar başlıca seruloplazmin, transferrin, haptoglobin ve albumin olup ekstrasellüler antioksidanlar olarak da adlandırılırlar. Seruloplazmin, demirin transferrine bağlanmasını kolaylaştırarak, haptoglobulin serbest hemoglobini bağlayarak ve albumin bakırı bağlayarak antioksidan etki yaparlar.

Redükte glutatyon, pek çok hücrede, serbest tiol grubu içermesi nedeniyle oksidatif strese karşı savunma mekanizması oluşturur.

### 2.2.3. GLUTATYON

Glutatyon, gama glutamat, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşmuş bir tripeptittir. Glutatyon, redükte halde sentezlenir. Sentez intraselüler ortamda gerçekleşirken, hidrolitik yıkımı gama glutamil transferaz ve peptidazlar ile hücre zarının dış kısmında gerçekleşir. Sentezi ATP'ye bağımlı olup GSH tarafından "feed-back" inhibisyona uğrar. GSH'nın yapısındaki sistein, sistationin yolunda S-adenozil metionin reaksiyonundan sağlanır. Bu reaksiyon ATP'ye karşı yüksek  $K_m$ 'e sahip olduğundan hipoksiden önemli ölçüde etkilenir. Bu nedenden dolayı hepatik oksijenizasyonundaki bir yetersizlik GSH sentezinde azalmaya yol açar.

GSH'nın oksidasyonu hem non-enzimatik olarak hem de glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi ile olur. Oluşan okside glutatyon (GSSG) pentoz fosfat yolundan sentezlenen redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfatı (NADPH) kullanarak glutatyon redüktaz (GR) ile redüklenir. Pentoz fosfat yolundaki bir aksama glutatyon metabolizmasına da zarar verir.

GSH, radikallerin oluşturduğu hasara karşı hücreyi savunmada önemli görevler üstlenir. Koruyucu etkisini 3 yolla gerçekleştirir:

1. Radikalleri, direkt olarak vitamin E'ye bağımlı olarak yok eder.
2. Peroksidazlarla lipid peroksid radikallerini yok eder.

3. Proteinlerin disülfit konumlarına tiol sağlayarak onları korur.

Hücrelerde GSH içeriğini etkileyen faktörler bu koruma oranını değiştirebilir. Hücreden hücreye GSH içeriği, hem sentez, hem de alım bakımından değiştiğinden, farklı hücrelerin oksidan strese karşı cevabı da farklıdır.

Glutasyon, eritrositte demiri  $Fe^{+2}$  durumunda korumaktan da sorumludur. Diğer bir görevi ise glutasyon-S-transferaz enzimi yardımı ile xenobiotikler ve sitokrom p450'ye bağımlı oksidazlarca üretilen elektrofillerin detoksifikasyonudur.

Oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları hücre fonksiyonlarının gerçekleşmesi için önemli reaksiyonlardır. GSH, güçlü bir nükleofil olup radikallerle direkt reaksiyona girerek tiol içeren proteinleri ve diğer okside ürünleri indirger. Özellikle serbest radikallerce ve peroksitlerce oluşturulan hasara karşı selüler cevapta önemli rol oynar.

Anoksi, metabolik transport reaksiyonlarını inhibe ederek hücrenin mitokondrial  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunu düşürüp, ATP sentetaz aktivitesini azaltarak GSH ve NADPH sentezinde azalmaya yol açar. Anoksi sonrası hücreler, metabolik kapasitelerini ve hücrel antioksidanlarla detoksifikasyon güçlerini yitirirler.

#### **2.2.4. İSKEMİ/REPERFÜZYON İLE OLUŞAN DOKU HASARI**

İskemi-reperfüzyon esnasında ortaya çıkan süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidroksil radikali (OH) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) gibi serbest radikaller yağ asitlerini etkileyerek membranda lipid peroksidasyonuna, proteinleri etkileyerek amino asit yapı bozukluğuna, sülfidril gruplarının oksidasyonuna ve polipeptid zincirinin kopmasına yol açar (27). İskemi sırasında hücre içinde aerobik metabolizma hızla anaerobik metabolizmaya dönüşür. Hücrede protonlar, laktat ve inorganik fosfatlar birikir. Hücre içi asidoz Na-K-ATPaz pompasının bozulmasına neden olur. Hücre içine  $Ca^{+2}$ ,  $Na^+$  ve  $Cl^-$  iyonlarının girişi artar,  $K^+$  iyonu



azalır, iskemi sırasında hücre içine kalsiyum girişinin artması endojen fosfolipazların aktivasyonuna ve hücre membran bütünlüğünün bozulmasına neden olur. Membran lipidlerinin yıkımı sonucu artan araşidonik asit miktarı reperfüzyon sırasında lipooksijenaz ve siklooksijenaz enzimleri aracılığı ile prostaglandin ve tromboksanları oluştururken süperoksit üretimine de neden olur (28).

İskemik periyod esnasında yeterince oksijen sağlanamaması ve metabolitlerin birikmesi de hücre hasarına katkıda bulunur. Hücresel enerji düzeyinin hızla düşmesi mitokondrial fonksiyonların bozulmasına, protein sentezinin azalmasına ve hücresel membran fonksiyonlarının etkilenmesine yol açar (29).

İskemi-reperfüzyon esnasında ortaya çıkan serbest radikallerin kaynağı doku ve organlara göre değişmekle beraber başlıca mekanizmalar şunlardır (30);

- 1) Mitokondriyal elektron transport sisteminin bozulması
- 2) Ksantin oksidaz enziminin aktivasyonu
- 3) Nötrofil aktivasyonu
- 4) Araşidonik asit salınımının artması
- 5) Katekolaminlerin otooksidasyonu
- 6) NO salınımı

Mostafa ve ark., infertilite nedeniyle varikoselektomi yapılan 68 hastada yaptığı çalışmada varikoselektomi sonrası seminal plazmada serbest oksijen radikallerinde anlamlı derecede düşüş, yine seminal plazmada antioksidan seviyelerinde anlamlı derecede artış tespit etmişlerdir (2). Koca ve ark. 30 infertil ve 20 fertil hastada yaptığı bir çalışmada fertil grupta seminal plazmada antioksidan kapasitenin anlamlı derecede yüksek olduğu izlenmiş, seminal plazmadaki azalmış antioksidan kapasitede sperm fonksiyonlarında özellikle motilitede anlamlı bozulma saptamışlardır (31).

Biz de klinik varikosel ile birlikte infertilitesi olan veya olmayan varikoselektomi yapılacak erkeklerde periferik venöz ve testiküler venöz kan örneğinde serbest oksijen radikallerini tespit etmeyi amaçladık.



## III- GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. HASTALAR:

Aralık 2001 ve Ağustos 2003 yılları arasında; skrotal ağrı, testiküler venlerde ele gelen şişlik şikayetleri ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Üroloji Polikliniği'ne başvuran ve klinik değerlendirmede varikozel tespit edilen fertil veya infertil 18 hasta çalışmaya alındı.

### 3.2. TANI:

Hastalardan ayrıntılı anamnez alındı, fizik muayeneleri yapıldı ve en az 2 semen örneği içeren spermogramları değerlendirildi. İki semen analizi arasındaki sürenin 7 günden az, 3 haftadan uzun süre olmamasına dikkat edildi. Varikozel tanıları fizik muayene ile koyuldu.

### 3.3. FİZİK MUAYENE KRİTERLERİ:

Fizik muayene, valsalva manevrası öncesi ve sonrasında spermatik kordun palpasyonu şeklinde yapıldı. Hasta ayakta dururken valsalva manevrası yaptırıldığında spermatik venler çok daha iyi dolgunlaştığından, düşük dereceli varikozellerin fizik muayenede saptanabilmesi için muayene ayakta yapıldı.

Fizik muayene bulgusuna göre varikozeller 3 derecede sınıflandırıldı;

1.derece: Valsalva manevrası sırasında palpe edilebilen varikozel

2.derece: Valsalva manevrası yapılmadan palpasyon ile saptanabilen varikozel

3.derece: Valsalva manevrası yapılmadan uzaktan, gözle görülebilen varikozel.

Varikozeli olan tüm erkeklerde fizik muayenelerin temel parçası testislerin kıvamı ve volümlerinin kesin olarak belirlenmesidir. Gerek adolesanlarda gerekse

erişkinlerde varikosel aynı taraf testiste küçülme ile birlikte dir. Ayrıca, varikosel bulunan adolesanlarda o taraf testiste büyüme de sıklıkla bozulur (18).

Testislerin sağlamlığının tanısı oldukça subjektif olsa da testis volümünün ölçümü Prader, disk orkidometre yada kaliper ile kesin olarak saptanabilir. Standart pratik uygulamada sol testis volümü sağ taraf ile karşılaştırılmaktadır. Behre ve Nashan testis volümünün ultrasonografi ile ölçümünün orkidometre ile karşılaştırıldığında pratikte küçük bir avantaj sağladığını tespit etmişlerdir (32). Biz de hastalarımızda rutin olarak fizik muayene ile sol testis boyutunu sağ testis boyutu ile karşılaştırdık. Ultrasonografi fizik muayene ile sağ testis ve sol testis arasında hacim farkı olan hastalara planlandı.

#### **3.4. SEMEN ANALİZİ:**

Semen kalitesi için bazal değer oluşturmak için en az iki örnek alındı. Semen kendi kendine uyarımla, dışarıya boşalmayla ve özel spermisid içermeyen bir kondomla geniş ağızlı, temiz cam veya plastik kaba toplandı. Ejakulasyon sonrasında sperm hareketliliği azaldığı için örnek alındıktan sonraki 1 saat içinde tahlil edildi (19). Taşınma sırasında örneğin vücut sıcaklığında tutulması sağlandı.

Bu bulgular ışığında hastaların preoperatif dönemde ve postoperatif 3. ayda sperm örnekleri değerlendirildi.

#### **3.5. DOPPLER KRİTERLERİ:**

Fizik muayeneyi güçleştiren durumların varlığında, yani testisleri skrotumun üst tarafında olan hastalar, küçük skrotum kesesine sahip hastalar, fizik muayenede zorluk yaratan anatomik özellikler, kremaster hiperrefleksisi, ortam-hasta yapısı nedeniyle muayene zorluğu olan hastalara renkli Doppler ultrasonografi yapıldı.

Ultrasonografiyle tipik olarak 3mm ya da daha geniş çaplı ve 2 yada 3'den daha fazla venin bulunması ve valsava sırasında reflünün görülmesiyle tanı konuldu (33).

### **3.6. EK TESTLER:**

Varikoselli infertil olgularda sperm sayısı 10 milyon/ml'den az olan hastalarda, cinsel fonksiyon bozukluğu veya endokrinopatiji düşündürecek olgularda endokrin ve genetik testlere ihtiyaç olabilmektedir, fakat çalışmaya alınan hastalarımızda en az sperm sayısı olan hasta 14 milyon/ml olduğundan bu testler çalışılmadı.

### **3.7. OPERASYON:**

Çalışmamızda inguinal veya subinguinal yaklaşımla operasyonlar gerçekleştirildi. Subinguinal yaklaşımda küçük venöz yapıları atlamamak, lenfatik ve arter zedelenmesini minimale indirmek için operasyon loopu kullanıldı. Operasyon esnasında spermatik ven ayrılmadan önce, testiküler venöz dönüş tarafından ~2cc kan alındı. Peroperatif dönemde eşzamanlı periferik venöz kan örneği alındı. Testiküler venöz kan ve periferik ven kanı eritrositlerinde süperoksitdismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz, plazmada malondialdehit ve total antioksidan kapasite ölçüldü.

### **3.8. BİYOKİMYASAL ANALİZ:**

Kan örnekleri heparinize tüplere alındı. Plazma +4<sup>0</sup> C'de, 10 dakika, 2500 devirde santrifüjle ayrıştırıldı. Eritrositler ice-cold fizyolojik salinle 3 kez yıkandı. Her yıkamadan sonra üstteki eritrosit tabakasıyla, soluk sarı renkli tabaka çıkarıldı ve atıldı. Yıkama prosedüründen sonra paketlenmiş hücreler ve plazma analize kadar -20<sup>0</sup> C'de depolandı. Paketlenmiş eritrosit hemoglobin konsantrasyonu spektrofotometrik olarak, cyanmethemoglobin metoduyla lizise uğramış hücrelerde tespit edildi.

Glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri için sonuçlar U/g hemoglobin olarak belirtildi. Eritrosit GPx, GR, SOD aktiviteleri ve plazma total antioksidan kapasite Randox Laboratuvarlarından (Randox Laboratories Ltd. Antrim, UK.) elde edilen ticari kitlerin kullanıldığı Hitachi 917 otoanalizeri ile ölçüldü. Tüm kimyasallar Sigma

Chemical Co. (St. Lois, MO, USA)'dan alındı. Plazma ve doku MDA seviyeleri Okhawa ve ark.'nın tanımladığı thiobarbituric asit metoduyla tespit edildi (34).

### **3.9. İSTATİSTİK:**

Hastalara ait preoperatif ve postoperatif semen parametreleri Wilcoxon rank testi ile ve periferik kan ve testiküler kan reaktif oksijen ürünlerine ait değerler Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. İstatistik işlemleri için SPSS v.12 (Chicago, Illinois, USA) kullanıldı.

### **3.10. TAKİP:**

Operasyondan sonra hastalar 1. haftada, 1. ve 3. aylarda kontrole çağrılarak klinik değerlendirmeleri yapıldı, komplikasyonlar açısından değerlendirildi. 3. aydaki kontrollerinde ise kontrol spermogramları alınarak değerlendirildi.

## IV- BULGULAR

Hastaların yaş ortalamaları  $24.5 \pm 4.2$  (16-30) idi. Çalışmamıza alınan 18 hastanın 15'i ağrı veya skrotal rahatsızlık gibi şikayetlerle polikliniğimize başvurdu. Kalan 3 hasta ise infertilite nedeniyle başvurmuşlardı ve ağrı şikayetleri yoktu. Fizik muayene ile tespit edilen varikosellerin grade ortalaması  $2.2 \pm 0.6$  olarak bulundu. Testiküler atrofi hiçbir hastada tespit edilmedi. Dolayısıyla bu hastalarda ultrasonografi planlanmadı. Hastaların preoperatif ve postoperatif 3. aydaki spermogram parametrelerine bakıldı. 3. aydaki spermogramda sperm sayısında istatistiksel olarak anlamlı yükselme tespit edilirken, postoperatif 3. aydaki motilite değerleri preoperatif değerlere göre düzelme göstermekle birlikte istatistiksel anlamlı düzeye ulaşmadı (Tablo-II).

Tablo-II: Hastaların preoperatif ve postoperatif 3. ay spermogram parametreleri

	Ortalama±S.D. (minimum-maksimum)		Wilcoxon rank testi
	Preoperatif	Postoperatif 3. ay	p
Abstinans süresi	$5.1 \pm 1.5$ (3-7)	$5 \pm 1.6$ (3-7)	0.5
mL	$2.7 \pm 0.8$ (1-4)	$3.5 \pm 1.3$ (2.5-5)	0.1
Sperm sayısı/mL	$64.3 \pm 43.8$ (14-128)	$89.5 \pm 47.5$ (34-140)	0.04
A motilite	$18.1 \pm 12$ (8-42)	$20.5 \pm 16.8$ (4-44)	0.8
B motilite	$27.8 \pm 8.2$ (10-38)	$36 \pm 7.1$ (30-44)	0.1
C motilite	$18.9 \pm 8.8$ (6-32)	$20 \pm 12.1$ (12-38)	0.6
D motilite	$27 \pm 10.6$ (12-40)	$21.5 \pm 14.9$ (4-40)	0.1

S.D.: Standart Deviasyon

Hastaların periferik ve testiküler venöz kan örneklerinde; eritrositlerde süperoksitdismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz, plazmada malondialdehit ve total antioksidan kapasite ölçüldü. Bu parametrelere ait tüm veriler ayrıntılı olarak Tablo III'de gösterilmiştir.

Tablo-III: Çalışılan hastalara ait laboratuvar sonuçları

Hasta No	ERİTROSİT			PLAZMA	
	SOD (U/g Hb)	Glutasyon Peroksidaz (U/g Hb)	Glutasyon Redüktaz (U/g Hb)	MDA (umol/L)	Total Antioksidan Kapasite (mmol Trolox equive./L)
<b>Periferik ven</b>					
1	1687	49,20	39,79	1,24	2,95
2	2137	68,69	79,16	1,02	1,86
3	1906	64,81	59,24	2,32	3,86
4	1623	74,04	55,05	2,43	2,68
5	3002	53,94	45,56	2,13	3,71
6	2074	70,67	43,88	0,73	1,93
7	3901	59,61	51,84	1,98	2,66
8	2922	59,10	41,89	1,75	2,19
9	3310	50,62	35,98	1,69	2,81
10	1923	56,23	53,51	1,37	2,28
11	2366	61,19	34,56	2,66	2,76
12	2784	70,87	35,61	1,96	2,29
13	2623	55,31	37,74	2,34	3,16
14	1871	56,07	54,98	1,54	2,50
15	2009	57,73	44,20	1,53	2,41
16	2255	58,20	70,81	1,11	2,65
17	2658	58,50	50,96	1,65	3,80
18	2121	56,31	35,38	1,42	2,59
<b>Testiküler ven</b>					
1	1724	61,28	49,32	2,16	2,83
2	1309	54,37	32,31	2,20	2,23
3	1419	45,36	45,63	2,70	1,80
4	2441	43,37	40,64	3,25	2,80
5	1500	36,86	28,02	3,32	2,12
6	2539	51,63	39,43	2,50	1,78
7	1578	45,79	41,75	2,52	1,66
8	2272	46,88	30,44	1,61	2,62
9	2000	40,63	35,39	2,64	2,63
10	1771	60,40	50,27	3,32	2,22
11	1834	54,55	33,51	3,13	1,99
12	2377	55,13	31,71	3,69	1,84
13	2329	47,46	26,33	2,15	2,02
14	2287	51,44	34,10	3,51	1,89
15	1783	49,04	40,68	4,41	3,22
16	1436	65,61	51,72	2,68	2,63
17	1932	46,29	47,92	2,12	2,42
18	1849	41,86	33,84	1,96	2,12



Testiküler ven eritrositlerinde SOD, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz, periferik ven eritrositlerine göre anlamlı olarak düşük tespit edildi (SOD için  $p=0,012$ , glutatyon peroksidaz için  $p<0,0001$ , glutatyon redüktaz için  $p=0,006$ ). Testiküler ven plazmasında malondialdehit, periferik ven plazmasına göre anlamlı olarak yüksekti ( $p<0,0001$ ). Total antioksidan kapasite ise periferik ven plazmasında anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p=0,014$ ). Çalışılan parametrelerin ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) değerleri Tablo-IV’de gösterilmiştir.

Tablo-IV: Çalışılan parametrelerin ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) değerleri

Örnek	Ortalama±S.D. (minimum-maksimum)		Mann-Whitney U testi
	Periferik ven eritrosit	Testiküler ven eritrosit	p
SOD (U/g Hb)	2398.38±607.44 (1623-3901)	1910.03±386.29 (1309-2539)	0.012
Glutatyon Peroksidaz (U/g Hb)	60.06±7.06 (49.20-74.04)	49.88±7.63 (36.86-65.61)	<0.0001
Glutatyon Redüktaz (U/g Hb)	48.34±12.49 (34.56-79.16)	38.50±7.94 (26.33-51.72)	0.006
Örnek	Periferik ven plasma	Testiküler ven plasma	
MDA (umol/L)	1.714±0.52 (0.73-2.66)	2.76±0.71 (1.61-4.41)	<0.0001
Total Antioksidan Kapasite (mmol Trolox equive./L)	2.72±0.58 (1.86-3.86)	2.26±0.43 (1.66-3.22)	0.014

S.D.: Standart deviasyon

## V- TARTIŞMA

Varikosel, spermatik kord içindeki testiküler venlerin anormal biçimde dilatasyonu ve kıvrımlar oluşturması durumudur. 10 yaşından önce varikosel çok nadir tespit edilebilir, erken erişkin dönemde ise sıklığı yaklaşık %15'e yükselir. İnfertilite ile gelen erkeklerde varikoselin sıklığı ise %20-40'dır (4,5).

Varikosel genellikle infertilite nedeniyle tetkik edilen hastada rutin muayene sırasında tespit edilse de, o taraf testiste ağrı ve çekilme hissi olabilir. Çalışmamıza alınan 18 hastanın 15'i ağrı veya skrotal rahatsızlık gibi şikayetlerle polikliniğimize başvurdu. Bu hastaların yapılan spermogramlarında bozulma tespit edildi. Kalan 3 hasta ise infertilite nedeniyle başvurmuşlardı, ağrı şikayetleri yoktu ve aynı zamanda bu hastaların spermogramları da normal sınırlarda değildi. Tek başına ağrı varikoselektomi için endikasyon değildir (35). Çalışkan ve arkadaşları semptomatik tedaviye yanıt vermeyen kronik skrotal ağrılı varikosellilerde operasyonu önermişlerdir (36). Bu çalışmaya alınan hastalarda da ameliyat endikasyonu, ağrı olsun ya da olmasın anormal seminal parametrelere sahip olmasıydı. Sadece ağrı şikayeti olan hastalar çalışmaya alınmadı ve öncelikle semptomatik tedavi uygulandı.

Varikosel tanısı fizik muayene ile koyulur. Fizik muayene, sıcak bir odada hasta supin pozisyonda ve ayakta iken kordun iki parmak arasında palpasyonu ile yapılır, Valsalva manevralı ve Valsalva manevrasız olarak tekrarlanmalıdır. Ayakta yapılmayan yada Valsalva uygulanmayan muayenede bazı olgularda varikoselin atlanmasına yol açacaktır. Varikosel, ağrısız, testisin üzerinde bazen çevresinde baskılanabilir bir kitle olarak kendini göstermektedir. Klasik olarak supin pozisyonda iken kaybolan solucan torbası olarak tanımlanmaktadır. Testislerin muayenesi oldukça subjektif olsa da testis volümünün ölçümü Prader disk orkidometre yada kaliper ile kesin olarak saptanabilir. Standart pratik uygulamada sol testis volümü sağ taraf ile karşılaştırılmaktadır. Behre ve Nashan testis volümünün ultrasonografi ile ölçümünün orkidometre ile karşılaştırıldığında pratikte küçük bir avantaj sağladığını tespit etmişlerdir (17). Biz de hastalarımızda

rutin olarak fizik muayene ile sol testis boyutunu sağ testis boyutu ile karşılaştırdık. Ultrasonografi fizik muayene ile sağ testis ve sol testis arasında hacim farkı olan hastalara planlandı. Fakat hasta grubumuzda, fizik muayenede hiçbir hastada testis volümlerinde fark yoktu ve ultrasonografiye ihtiyaç duyulmadı.

Hastaların bir kısmında skrotumda dilate venler belirgin olarak görülr. Dilate venler fizik muayene sırasında palpe ediliyorlarsa klinik varikosel vardır. Fizik muayenede tespit edilememiş, ancak radyolojik yöntemlerle tanı konulmuş varikosele 'subklinik varikosel' denir (37). Subklinik varikoselin tedavi edilmesinin seminal parametreler ve gebelik oranları üzerindeki etkisi kesin olarak ispat edilmiş değildir. Bugünkü veriler subklinik varikoselin tedavi edilmemesi gerektiği yönündedir. Kesin bir kanıya varabilmek için prospektif, randomize ve kontrollü geniş hasta serilerine ihtiyaç vardır. Bu nedenle subklinik varikosel tanısı konulan olgular tedavi edilmeden önce sperm değerlerinde ve gebelik şanslarında herhangi bir düzelme olamayabileceği, hatta postoperatif semen parametrelerinin olumsuz etkilenebileceği konusunda uyarılmalıdır (38). Bu çalışmada sadece klinik varikoseli olan hastalar incelendi.

Normal bir kişide semenin kalitesi günden güne değişebilir ve semen tahlili sonuçları toplama tekniğine çok bağlıdır. Örnek toplanmasından önce cinsel perhiz dönemi bu değişkenliğin en önemli kaynaklarından biridir. Perhizin bir günü (1 haftaya kadar) semen hacmini 0,4ml, sperm konsantrasyonunu 10-15 milyon/ml'e kadar yükseltebilir. Perhiz süresi 7 günden fazla olursa sperm hareketliliği düşme eğilimi gösterir. Bu çalışmada da bu kriterlere uyararak, cinsel perhizden sonraki 4. veya 5. gün semen örneklerini alındı. Semen kalitesi için bazal değer oluşturmak için en az iki örnek alındı. Semen kendi kendine uyarımla, dışarıya boşalmayla veya özel spermisid içermeyen bir kondomla geniş ağızlı, temiz cam veya plastik kaba toplandı. Ejakulasyon sonrasında sperm hareketliliği azaldığı için örnek alındıktan sonraki 1 saat içinde tahlil edildi (19). Taşınma sırasında örneğin vücut sıcaklığında tutulması sağlandı. Bu bulgular ışığında hastaların preoperatif dönemde ve postoperatif 3. ayda sperm örnekleri

değerlendirildi. 3. aydaki spermogramda sperm sayısında istatistiksel olarak anlamlı yükselme tespit edilirken, postoperatif 3. aydaki motilite değerleri preoperatif değerlere göre düzelme göstermekle birlikte istatistiksel anlamlı düzeye ulaşmadı (Tablo-II). Halbuki Abdulmaaboud ve arkadaşları yaptıkları çalışmada postoperatif 4. ayda sperm sayısı ile birlikte motilitede de anlamlı artış tespit etmişlerdir (39). Yine Mostafa ve arkadaşları da, Abdulmaaboud ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer şekilde postoperatif 3. ayda sperm sayısı ile birlikte motilitede anlamlı artış izlemişlerdir (2).

Varikoselin açık cerrahi (yüksek retroperitoenal, inguinal, subinguinal ve skrotal), laparoskopik ve radyolojik (skleroterapi veya embolizasyon) yöntemlerle tedavisi bulunmakla beraber, tedavide altın standart açık cerrahidir (40). Varikoselektomide amaç, tüm internal spermatic ven dalları ve eksternal spermatic ven dallarını bağlamak; vaz deferens ve damarlarını koruyarak bu yolla testiküler venöz drenajı sağlamak ve spermatic kordona ait lenf damarlarını ve arteri korumaktır. Varikozel tedavisinde uygulanan en iyi yöntemde; varikozel nüksü, arter yaralanması ve postoperatif hidrosel oluşumu gibi komplikasyon oranları en düşük ve postoperatif sperm parametrelerinde iyileşme ve gebelik oranları diğer yöntemlerden yüksek olmalıdır.

Laparoskopik yaklaşım, varikozel tedavisinde uygulanan bir yöntem olmasına rağmen, özellikle eksternal spermatic venin görüntülenememesi ve bunun sonucu bağlanamaması, intestinal ve major damar yaralanmaları gibi intraabdominal komplikasyon riski taşımaktadır (40). Bu komplikasyonlar nadir de olsa ciddi olabilmekte ve hatta laparotomi gerekliliği dahi ortaya çıkabilmektedir. Maliyet yüksekliği de varikoselin laparoskopik yöntemle tedavisinin diğer bir dezavantajıdır.

İnternal spermatic venin radyolojik olarak oklüzyon-embolizasyonu (balon veya koil ile) veya skleroterapi varikoselin tedavisinde bir diğer alternatiftir. Perkutan embolizasyonun avantajları daha az ağrıya ve postoperatif dönemde daha erken iyileşmeye neden olmasıdır. Ancak oldukça deneyimli olmayı

gerektiren bir yöntemdir ve tedaviyi uygulayan hekimin tecrübesine bağlı olarak tedavi sonuçları değişebilmektedir. Girişimlerin %75-90'nda venografik olarak başarıyla internal spermatic vene balon veya koil yerleştirilebilmesine rağmen, bazı olgularda teknik nedenlere bağlı olarak internal spermatic vene girişim sağlanamamaktadır. Bu nedenle radyolojik oklüzyon denenen hastaların bir kısmında sonuç olarak cerrahi gerekmektedir. Radyolojik tedavi yönteminin, günümüzde çoğunlukla cerrahi tedavi sonrası nükslerde bir alternatif olabileceği kabul edilmektedir (40).

Varikozel tedavisi sonrası nüks nedenlerinden biri olarak eksternal spermatic ven yoluyla şant oluşumu sorumlu tutulmaktadır. Varikosektomi yöntemlerinden ekstrapitoneal veya laparoskopik yolla eksternal spermatic vene ulaşamayacağı için düşük ligasyon (inguinal/subinguinal) yöntemleri tercih edilmelidir. Tablo V'de değişik varikosektomi yöntemlerinin sonuçları karşılaştırılmıştır (39). Mikroskop veya optik büyüteç kullanılmadan yapılan konvansiyonel varikosektomide, küçük internal spermatic ven dallarının görülememesi nedeniyle bağlanamaması varikozel tedavisinde en önemli nüks nedenidir (41). Bu amaçları gerçekleştirmede ideale en yakın cerrahi yöntemler optik büyüteç kullanılarak uygulanan inguinal veya subinguinal varikosektomidir (40). Optik büyüteç olarak mikroskop ve loop kullanılmakta ise de ideal varikosektomi şartlarını sağlamada mikroskopun loop'a göre daha avantajlı olduğu konusunda görüş birliği bulunmaktadır. Özellikle daha distalde daha fazla ven ligasyonu, daha yüksek arter yaralanma riski ve mikrocerrahiye daha fazla deneyim gerektirmesi subinguinal yöntemin dezavantajıdır. Proksimalde daha az ven ligasyonu, daha düşük arter yaralanma riski ve mikrocerrahiye daha az deneyim gerektirmesi inguinal yöntemin avantajlarıdır. Bu yöntemle olguların yaklaşık %50'sinde postoperatif total sperm sayısında %50'den fazla artış ve olguların %36-43'nde gebelik sağlanmıştır (41).

Tablo-V: Varikozel tedavileri: Sonuçların karşılaştırılması

Sonuç Parametresi	İnsizyonel Tedavi	Laparoskopik Tedavi	Radyolojik Tedavi
Gebelik oranı	% 37	% 39	% 41
Nüks	% 10	% 9	% 11
Operasyon Zamanı (dakika)	22 ± 8	35 ± 11	59 ± 14
İşe başlamaya kadar geçen süre (gün)	8 ± 4	3 ± 2,3	1

Biz de inguinal ve subinguinal yaklaşımların yukarıda bahsedilen avantajlarından dolayı bu yöntemleri tercih ettik. Subinguinal yaklaşımda küçük venöz yapıları atlamamak, lenfatik ve arter zedelenmesini minimale indirmek için operasyon loopu kullandık.

Bu alışma vazektomi, orşiektomi veya herniorafi planlanan hastalardan oluşturulacak bir kontrol grubuyla geliştirilebilirdi fakat bulunduğumuz populyasyonda vazektomi için başvuran hastanın olmaması, herniorafi planlanan hastalarda sağlam spermatik venden kan rneği almak için damar yaralanmasına sebep olma olasılığı ve postoperatif kanama komplikasyonu olasılığı nedeniyle tercih edilmemiştir. Ayrıca alışma süresinde orşiektomi planlanan hasta olmaması kontrol grubunun oluşturulmasına engel olmuştur.

Varikozel erkek infertilitesinin en sık rastlanılan düzeltilebilir bir nedenidir. Yaklaşık %90'ı sol tarafta bulunur. Çoğu çalışmada bilateral varikozel sıklığı yaklaşık %10 olarak bildirilmekle birlikte, bazı yakın tarihli yayınlarda bilateral görülme sıklığı daha yüksek bulunmuştur (6-8). Varikozelin sol tarafta daha sık görülmesi, sağ ve sol testiküler venlerin drenaj yollarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Sol testiküler venler normalde doğrudan sol renal vene, sağ testiküler venler ise vena kava inferiora açılırlar. Sol testiküler ven, sol



renal vene dik açıyla girerken, sağ renal ven vena kavaya oblik olarak girer. Sol renal venin, vena kavaya bağlantısı sağ testiküler venin bağlantısından 8-10cm daha kranialdedir. Ayrıca, sol tarafta venöz valvlerin bulunmama sıklığı sağ tarafa göre daha fazladır (1). İlave olarak, sol renal ven süperior mezenterik arter ve aorta arasında sıkışabilir. Bu 'findık kıran (nutcracker) fenomeni' sol testiküler venöz sistemde basınç artışına sebep olur (10). Sonuç olarak sol testiküler vende 8-10cmH<sub>2</sub>O daha fazla basınç vardır ve rölatif olarak daha yavaş kan akımı vardır. Tek taraflı sağ varikosellere sık rastlanmaz ve vena kavada oklüzyon yada tromboz (vena kavada tromboz yapan sağ taraf böbrek tümöründe olduğu gibi) yada situs inversus olasılığını düşündürür (9).

Varikosel, ilerleyici testis hasarı ile seyrederek testis gelişiminde gerilemeye ve spermatogenez bozarak infertiliteye neden olabilir. Varikoselin fertilité üzerine etkileri semen anomalileri (sperm sayısı, motilité ve morfolojide bozulma), testiküler volümde azalma ve Leydig hücre fonksiyonunda azalmayla ilişkilidir (42).

Varikoselin patofizyolojisi konusunda sınırlı bilgilere sahip olmamıza rağmen, olası hipotezler arasında; renal ya da adrenal toksik metabolitlerin reflüsü, bozulmuş hormon dengesi, spermatik venöz hipertansiyon, testiküler hipoksiye sekonder staz, anormal ısı regülasyonu ve artmış oksidatif stres sayılabilir (2,3,11,12,13,14,15,16). Bu faktörlerin nasıl sperm fonksiyonuna zarar verdiği konusu tam olarak anlaşılammıştır. Yapılan çoğu çalışmada varikoselde testiküler ısı artımının infertiliteye neden olduğu öngörülmüştür (12,13). Aksine, Wang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada testiküler ısı artımının infertiliteye sebep olmadığını göstermişlerdir (43). Harrison ve arkadaşları ise maymunlarda varikosel modeli yaratmışlar ve bir grubuna eş zamanlı olarak aynı taraf adrenelektomi uygulamışlardır (44). Bu çalışma testiküler disfonksiyonun adrenal kaynaklı bir metabolit nedeniyle oluşabileceğini göstermek için planlanmıştır fakat sonucunda testiküler patoloji açısından her iki grupta herhangi bir fark izlenmemiştir. Buna benzer olarak olarak bir diğer çalışmada varikoselli hastaların serum testosteron düzeylerinin gerek periferik, gerekse internal spermatik venden

alınan örneklerde ve kontrol gruplarında birbirlerinden farklı olmadıkları saptanmıştır (45).

Tek taraflı varikoseli olan ve infertil erkeklerin testislerinin histolojik değerlendirmesi azalmış spermatogenez, maturasyon arresti ve tubuler kalınlaşmayı içeren bilateral bulgular gösterebilmektedir. Ek olarak atrofiden hiperplaziye kadar değişebilen Leydig hücre anormallikleri saptanabilmektedir. Bu bulgular her iki testiste saptanabilmekle birlikte daha çok varikoselin olduğu tarafta rastlanmaktadır. Hadziselimovic tek taraflı varikoseli olan adölesanlarda bilateral testis biopsileri üzerinde çalışmıştır ve histolojik olarak seminifer tübüllerde bozulmuş spermatogenez ve Sertoli hücrelerinde değişen oranlarda dejeneratif değişiklikler tespit etmiştir (19). Sertoli hücrelerindeki değişikliklerin geri dönüşümsüz olduğu durumlarda Leydig hücre atrofisi olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte Leydig hücre aplazisi bulunduğu geri dönüşümsüz Sertoli hücre hasarı olduğunu saptamıştır. Hadziselimovic bu çalışmasında 13 yaş altı erkek çocukların tümünde normal testiküler histoloji görüldüğü sonucuna varmıştır. Anormal histolojik bulgular varlığında her iki testisin de etkilendiği ancak daha çok varikoselin bulunduğu tarafın etkilendiğini ortaya koymuştur. Leydig hücre atrofisi değişmeksizin mevcut olmakla birlikte, Leydig hücre hiperplazisi çok sık görülmemektedir.

Güncel çalışmalarda ise sperm disfonksiyonu ile reaktif oksijen türevlerinin arasında ilişki olduğu düşünülmektedir (2,3). Sitoplazmada azalan antioksidan üretimi spermatazoayı oksidatif hasara karşı hassas hale getirmektedir. Bunun da ötesinde, oksidatif stresin varikosel hastalarında sperm disfonksiyonunda rol oynadığı bildirilmektedir (2). Aerobik şartlar altında insan hücreleri süperoksit radikalleri ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^-$ ) gibi çeşitli serbest oksijen radikalleri üretirler. Her ne kadar bu metabolitler spermin hiperaktivasyonu ve kapasitasyonu gibi olaylarda normal bir fizyolojik role sahip olsalar da, aynı zamanda sperme toksik de olabilirler (25). Serbest oksijen radikalleri lipid hücre membranında peroksidatif hasar meydana getirir. Sperm metabolizması, morfolojisi, motilitesi ve fertilizasyon kapasitesi



üzerinde zararlı etkileri gösterilmiştir. Fertil erkek popülasyonu ile karşılaştırıldığında, infertil erkeklerin daha büyük kısmı seminal ROS düzeylerinde artış gösterirler (46).

Pro-oksidanlar ile antioksidanlar arasında bir denge mevcuttur. Semende veya vajinal sekresyonda, bu dengede pro-oksidanlar lehine bir bozulma olduğunda sperm üzerinde oksidatif stres indüklenir. Diğer taraftan, semende antioksidanlarda bir düşüşün meydana gelmesi de idiyomatik infertilite ile ilişkilidir (47). Mevcut veriler ışığında bu çalışmada, klinik varikozel ile birlikte infertilitesi olan veya olmayan varikozektomi yapılacak erkeklerde periferik ve testiküler venöz kan örneklerinde, oksidatif stresi göstermeye yönelik olarak eritrositlerde süperoksitdismutaz, glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktaz, plazmada malondialdehit ve total antioksidan kapasiteyi tespit ettik.

ROS üretimindeki artış, antioksidan enzim aktivitesini inhibe edebilir ve oluşan potansiyel oksidatif stres sonucu olarak; infertiliteye sebep olabilecek lipid peroksidasyonu artar, sperm motilitesi, canlılığı ve fonksiyonları azalır. Alkan ve arkadaşları idiyomatik infertilitesi olan hastalar ve sağlıklı donörlerin spermlerini serbest oksijen radikalleri üretimi yönünden incelemişler. Sonuç olarak da düşük seminal plazma antioksidan aktivitenin ve yüksek serbest oksijen radikali üretiminin idiyomatik infertiliteden sorumlu olabileceğini göstermişlerdir (48).

Lewis ve arkadaşları genel infertil popülasyonda seminal sıvıda %40 oranında ROS artışı bulmuşken, bu oranı varikozeli olan infertil popülasyonda %80 olarak tespit etmişlerdir (49). Başka bir çalışmada insidental varikozel tespit edilenlerde seminal sıvıda ROS artışı %77 iken, kontrol grubunda bu oran %20 olarak bulunmuştur (50).

Spermatozoanın düşük miktarda ürettiği reaktif oksijen türevlerinin spermin kapasitasyon ve akrozom reaksiyonundaki etkisi bilinmektedir. Seminal yüksek ROS düzeyleriyle, membran yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu sperm fonksiyonları ve canlılığının azaldığı bildirilmektedir. İnfertil erkeklerin %40'nda

görülen yüksek ROS düzeylerinin IVF sonuçlarıyla ters orantılı olup, düşük ROS bulunan infertil erkeklere göre beş kat az gebelik ihtimali bildirilmektedir (51).

Yukarıda bahsedilen çalışmalarda (46-51) varikosel veya infertilite nedeniyle takip edilen hasta gruplarında seminal sıvıda serbest radikaller araştırılmıştır. Bilindiği üzere seminal sıvıdaki serbest radikallerin kaynağı sperm ve lökositlerdir (52). Seminal vezikül, prostat ve epididim gibi diğer genital sistem organlarının infeksiyon ve enflamasyonu nedeni ile ortaya çıkabilecek serbest radikaller çalışmaların sonuçlarını etkileyebilir. Biz çalışmamızda serbest radikallere testiküler venede bakarak, varikoselin testis üzerine direkt etkisini ortaya koyduğumuz düşüncesindeyiz.

8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) ROS tarafından aktive edilen DNA ürünlerinden biri olup, oldukça düşük miktardaki oksidatif DNA hasarını belirleyebilmekte ve yüksek performanslı likit kromatografi ve elektrokimyasal detektör sistemlerinde gösterilebilmektedir. Chen ve ark. sperm DNA hasarının erkek infertilitesi ile yakından ilişkili olduğunu ve 8-OHdG'nin ROS tarafından teşvik edilen oksidatif DNA hasarını gösteren hassas bir belirteç olduğunu erkek infertilitesi ile ilgili çalışmalarında göstermişlerdir (53). Varikosel ve subklinik varikosel hastalarında spermatik venden ve periferik kandan elde edilen lökosit DNA'sında 8-OHdG seviyelerine bakmışlardır (53). Varikosel ve subklinik varikosel hastaları arasında testiküler ven lökosit DNA'sında 8-OHdG seviyeleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamışlardır fakat özellikle varikoselli hasta grubunda testiküler venede periferik vene kıyasla lökosit DNA'sında 8-OHdG düzeyini yani oksidatif stresi daha yüksek olarak tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde varikoselli hastalarda spermatik ven ve periferik venede serbest radikallere bakarak spermatik venede oksidatif stresin daha yüksek olduğunu tespit ettik. Fakat bizim çalışmamızda oksidatif stres belirteci olarak, testiküler venöz kan ve periferik ven kanı eritrositlerinde süperoksitdismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz, plazmada malondialdehit ve total antioksidan kapasite miktarlarına bakıldı.

Spermatik hücreler, glutatyon peroksidaz ile hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitleri inaktive etmek için redükte glutatyon sağlayan, GPx ile bu serbest oksijen radikallerin etkilerinden korumaktadır (54). Giannattasio ve arkadaşları, sağlıklı normal şahıslarda, seminal plazma GPx aktivitesinin, infertil hastalara göre daha yüksek olduğunu ve erkeklerde gonadal fonksiyonlar için çok yararlı yeni bir belirteç olarak kullanılmasını önermektedirler (55). Bu nedenle bu çalışmada varikoseli olan hastalarda, testiküler ven eritrositlerinde glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz çalışıldı ve periferik ven eritrositlerine göre anlamlı olarak düşük tespit edildi (Glutatyon peroksidaz için  $p<0,0001$ , glutatyon redüktaz için  $p=0,006$ ).

Yine çalışmamıza benzer şekilde Romeo ve arkadaşları, spermatik ven ve periferik ven oksidatif stresini ortaya koymak üzere adölesan grade II-III varikosellilerde bir araştırma yapmışlardır (56). Oksidatif stres belirteci olarak NO seviyesini incelemişlerdir. Periferik vene kıyasla, spermatik vende NO seviyesini yüksek olarak bulmuşlardır. Fakat spermatozoalar tarafından yapılan en önemli reaktif oksijen türevi süperoksit anyonudur ve bu anyon süperoksitdismutaz enziminin katalizlediği bir reaksiyon ile hidrojen peroksit oluşturmaktadır. Hidrojen peroksitin sperm hücreleri üzerindeki toksik etkisinin diğer oksijen türevlerine kıyasla daha fazla olduğu ve spermatozoa hücrelerinin oositler ile birleşme yeteneğinin ortama eklenen hidrojen peroksit ile azaldığı gösterilmiştir (57). Dolayısıyla çalışmamızda oksidatif stres belirteci olarak süperoksitdismutazı da özellikle kullandık ve testiküler ven eritrositlerinde süperoksitdismutaz periferik ven eritrositlerine göre anlamlı olarak düşük tespit edildi ( $p=0,012$ ).

Bu belirteçlerin korelasyonu için de oksidatif stres belirteci olan malondialdehit ve antioksidan aktivite tayini için total antioksidan kapasite kullanıldı. Testiküler ven plazmasında malondialdehit, periferik ven plazmasına göre anlamlı olarak yüksekti ( $p<0,0001$ ). Total antioksidan kapasite ise periferik ven plazmasında anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p=0,014$ ).

## VI- SONUÇ

Bu çalışmada varikozel tespit edilen erkeklerde periferik vende ve testiküler vende serbest oksijen radikallerini tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla hastaların periferik ve testiküler venöz kan örneklerinde, eritrositlerde süperoksitdismutaz, glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktaz, plazmada malondialdehit ve total antioksidan kapasite ölçüldü. Sonuç olarak da testiküler vende, periferik vene kıyasla antioksidan aktivitenin daha düşük, oksidatif stresin ise daha yüksek olduğunu tespit edildi.

Varikozelli erkeklerde oksidatif stresi ortaya koymak için yapılan önceki çalışmalarda genellikle ROS seminal plazmada bakılmıştır (2,31). Fakat lökositospermi gibi durumlar nedeniyle semende ROS araştırılması hatalı sonuçlar verebilir. Bilindiği üzere insan sperm süspansiyonlarındaki polimorfonükleer lökositler serbest oksijen radikallerinin major kaynağıdır (58). Bu çalışmada varikozektomi esnasında spermatik venden alınan kan örneğinde ROS bakarak bu faktörlerin elimine edilmesi amaçlanmıştır. Buna benzer olarak literatürde çok ender klinik çalışma mevcuttur.

Çalışma sonuçlarında 3. ayda bakılan kontrol spermogramlarında sadece sperm sayısında anlamlı düzelme tespit edildi. Motilitede preoperatif değerlere göre anlamlı değişiklik bulunmadı.

Bu çalışma, vazektomi, orşiektomi veya herniorafi planlanan hastalardan oluşturulacak bir kontrol grubuyla geliştirilebilirdi fakat bulunduğumuz popülasyonda vazektomi için başvuran hastanın olmaması, herniorafi planlanan hastalarda sağlam spermatik venden kan örneği almak için damar yaralanmasına sebep olma olasılığı ve postoperatif kanama komplikasyonu olasılığı nedeniyle tercih edilmemiştir. Ayrıca çalışma süresinde orşiektomi planlanan hasta olmaması kontrol grubunun oluşturulmasına engel olmuştur.

Varikoselin infertilite patogenezinde yukarıda sayılan mekanizmalara ilaveten, varikosele sekonder olarak serbest oksijen radikallerinin oluşması bu faktörler arasında sayılabileceğini düşündürmektedir. İnsanda varikosektomi cerrahisi sonrası izlem periodunda testiküler ven kanındaki ROS düzeyinin normale gelip gelmediği konusunda araştırma yapmak tekrar cerrahi gerektireceğinden uygulanmamıştır. Seminal plazmadaki ROS düzeyinin araştırıldığı çalışmalarda operasyon sonrası 3. ayda ROS düzeylerinin normale gelmesi ve buna paralel olarak seminal parametrelerin normale yaklaşması (2), infeksiyon, inflamasyon gibi ROS ürünlerinin yükseldiği durumların yokluğunda, bu cerrahinin seminal plazmadaki ROS miktarını düşürdüğünü düşündürmektedir.

Antioksidan tedavinin varikosektomi cerrahisi öncesi dönemde uygulanmasının rolü hakkında literatür bilgisi yoktur. Cerrahi istemeyen hastalara veya cerrahiden elde edilecek başarının artırılması veya daha erken dönemde semen parametrelerinin düzelmesini sağlamak amacıyla antioksidan tedavinin rolü olabileceği düşünülebilir. Ancak bu hipotezin klinik çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir.

Sonuç olarak klinik varikoselin infertiliteye sebep oluş fizyopatolojisindeki hipotezler arasında bulunan serbest oksijen radikali artışı bu çalışmada gösterilmiştir. Serbest oksijen radikallerini azaltmaya yönelik uygulanacak medikal veya cerrahiyle birlikte medikal tedavinin klinik başarıyı artırıcı etkilerini araştırmaya yönelik çalışmalara ihtiyaç vardır.

## VII- ÖZET

Varikosel, spermatik kord içinde pampiniform pleksusu oluşturan spermatik venlerin dilate ve tortuöz hal alması olarak tanımlanmaktadır. Tedavi edilebilir infertilitenin en sık sebebi varikoseldir.

Varikoselin, artmış serbest oksijen radikali ve azalmış seminal plazma antioksidan kapasitesiyle ilişkisi birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Oksidan ve antioksidan sistemi arasındaki dengenin oksidan sistem lehine bozulduğu durumlarda hücre fonksiyonları olumsuz yönde etkilenir. Özellikle motilitede azalma olmak üzere sperm fonksiyonlarında bozulma meydana gelir.

Biz de infertilite veya klinik varikosel nedeniyle varikoselektomi yapılacak erkeklerde periferik venöz ve testiküler venöz kan örneğinde serbest oksijen radikallerini tespit etmeyi amaçladık.

Aralık 2001 ve Ağustos 2003 yılları arasında; skrotal ağrı, testiküler venlerde ele gelen şişlik şikayetleri ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Üroloji Polikliniği'ne başvuran ve klinik değerlendirmede varikosel tespit edilen fertil veya infertil 18 hasta çalışmaya alındı. Hastalardan ayrıntılı anamnez alındı, fizik muayeneleri yapıldı ve en az 2 semen örneği içeren spermogramları değerlendirildi. Operasyon esnasında spermatik ven ayrılmadan önce, testiküler venöz dönüş tarafından ~2cc kan alındı. Peroperatif dönemde çalışmak üzere periferik venöz kan örneği alındı.

Testiküler venöz kan ve periferik ven kanı eritrositlerinde süperoksidismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz, plazmada malondialdehit ve total antioksidan kapasite ölçüldü. Postop 1. ve 3. aylardaki kontrollerinde hasta klinik olarak değerlendirildi. 3. ayda ayrıca kontrol spermogramı alındı.

Hastaların yaş ortalamaları  $24.5 \pm 4.2$  (16-30) idi. Fizik muayene ile tespit edilen varikosellerin grade ortalaması  $2.2 \pm 0.6$  bulundu. Hastaların preoperatif ve postoperatif 3. aydaki spermogram parametrelerine bakıldı.

Üçüncü aydaki spermogramda sperm sayısında istatistiksel olarak anlamlı yükselme tespit edilirken, postoperatif 3. aydaki motilite değerleri preoperatif değerlere göre düzelme göstermekle birlikte istatistiksel anlamlı düzeye ulaşmadı.

Testiküler ven eritrositlerinde SOD, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz, periferik ven eritrositlerine göre anlamlı olarak düşük tespit edildi (SOD için  $p=0,012$ , glutatyon peroksidaz için  $p<0,0001$ , glutatyon redüktaz için  $p=0,006$ ). Testiküler ven plazmasında malondialdehit, periferik ven plazmasına göre anlamlı olarak yüksekti ( $p<0,0001$ ). Total antioksidan kapasite ise periferik ven plazmasında anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p=0,014$ ).

Klinik varikoselin infertiliteye sebep oluş fizyopatolojisindeki hipotezler arasında bulunan serbest oksijen radikali artışı bu çalışmada gösterilmiştir. Serbest oksijen radikallerini azaltmaya yönelik uygulanacak medikal veya cerrahiyle birlikte medikal tedavinin klinik başarıyı artırıcı etkilerini araştırmaya yönelik çalışmalara ihtiyaç vardır.



## VIII- SUMMARY

### EVALUATION OF THE REACTIVE OXYGEN SPECIES IN PERIPHERIC AND TESTICULAR VEIN IN MEN WITH VARICOCELE

Varicocele is defined as the dilatation of the spermatic veins that creates the plexus pampiniformis. The most common cause of infertility that can be treatable is varicocele.

Increased reactive oxygen species levels and decreased antioxidant activity of seminal plasma of patients with varicocele attract many investigator's attention. When the balance between oxidant and antioxidant systems change in favor of oxidant system, cell functions interacts negatively. The hyperactive production of reactive oxygen species may cause loss of sperm functions, especially decreases motility.

The purpose of this study is to determine the free oxygen radicals from peripheral vein and testicular vein blood samples of the men with infertility or clinical varicocele before varicocelectomy.

Between December 2001 and August 2003, fertile or infertile patients who presented with scrotal pain, palpable/visible veins included in this study. A detailed medical history was taken and a complete physical examination was done. At least 2 spermiograms were evaluated. During the operation before dissecting the spermatic vein, 2cc blood sample was taken. Peripheral vein blood sample was taken at the peroperative period.

Superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione reductase was measured at testicular and peripheral blood erythrocyts, malondialdehyde and total antioxidant capacity was measured at plasma. The patients were clinically



evaluated postoperatively at 1st and 3rd month. At 3rd month control spermogram was evaluated.

The mean age of patients were  $24.5 \pm 4.2$  (16-30) years. The varicoceles' grades that found by physical examination was  $2.2 \pm 0.6$ .

Preoperative and postoperative 3rd month spermograms of the patients were evaluated. A statistical increase was found at the sperm concentration but at motility this increase was not statistically significant.

Testicular vein erythrocytes superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione reductase were statistically lower than peripheric vein erythrocyts (for superoxide dismutase  $p=0,012$ , for glutathione peroxidase  $p<0,0001$ , for glutathion reductase  $p=0,006$ ). Testicular vein plasma malondialdehyde level was statistically higher than peripheric vein plasma ( $p<0,0001$ ). Total antioxidant capacity was higher at the peripheric plasma ( $p=0,014$ ).

Increasing of free oxygen radicals that is in the phsyopatology of 'clinical varicocele causes infertility' hypothesis, was showed in this study. We need further investigations to increase clinical success with medical or surgery with medical treatments for decreasing free oxygen radicals.

## IX- KAYNAKLAR

- 1) Ahlberg NE, Bartley O, Chidekel N. Circumference of the left gonadal vein. An anatomical and statistical study. *Acta Radiol Diagn.* 1965; 3(6): 503-512.
- 2) Mostafa T, Anis TH, El-Nashar A, Imam H, Othman IA. Varicocelectomy reduces reactive oxygen species levels and increases antioxidant activity of seminal plasma from infertile men with varicocele. *Int J.Androl.* 2001; 24(5):261-265.
- 3) Agarwal A, Ikemeto I, Loughlin KR. Relationship of sperm parameters with levels of reactive oxygen species in semen specimens. *J Urol.* 1994; 152(1):107-110.
- 4) Marks JL, McMahon R, Lipshultz LI. Predictive parameters of successful varicocele repair. *J Urol* 1986; 136:609–612.
- 5) Dubin L, Amelar RD. Varicocelectomy: 986 cases in a twelve-year study. *Urology* 1977; 10:446–449.
- 6) Jarow JP, Ogle SR, Eskew LA. Seminal improvement following repair of ultrasound detected subclinical varicoceles. *J Urol* 1996; 155:1287–1290.
- 7) Gorelick JI, Goldstein M. Loss of fertility in men with varicocele. *Fertil Steril* 1993; 59:613–616.
- 8) Witt MA, Lipshultz LI. Varicocele: A progressive or static lesion? *Urology* 1993; 42:541–543.
- 9) Grillo-Lopez AJ. Primary right varicocele. *J Urol* 1971; 105:540–541.
- 10) Coolsaet BL. The varicocele syndrome: Venography determining the optimal level for surgical management. *J Urol* 1980; 124:833–839.
- 11) Comhaire F, Vermeulen A. Varicocele sterility: Cortisol and catecholamines. *Fertil Steril* 1974; 25:88–95.
- 12) Zorngiotti AW, Macleod J. Studies in temperature, human semen quality and varicocele. *Fertil Steril* 1973; 24 (11): 854-863.
- 13) Wright EJ, Young GP, Goldstein M. Reduction in testicular temperature after varicocelectomy in infertile men. *Urology* 1997; 50: 257-9.

- 14) Ito H, Fuse H, Minagawa H, Kawamura K, Murakami M, Shimazaki J. Internal spermatic vein prostaglandins in varicocele patients. *Fertil Steril.* 1982;37(2):218-22.
- 15) Chakraborty J, Hikim AP, Jhunjhunwala JS. Stagnation of blood in the microcirculatory vessels in the testes of men with varicocele. *J Androl* 1985; 6:117–126.
- 16) Hudson RW, Perez Marrero RA, Crawford VA, McKay DE. Hormonal parameters of men with varicoceles before and after varicocelektomy. *Fertil Steril*, 1985; 43(6): 905-910.
- 17) Su LM, Goldstein M, Schlegel PN. The effect of varicocelectomy on serum testosterone levels in infertile men with varicoceles. *J.Urol* 1995; 154: 1752-1755.
- 18) Lyon RP, Marshall S, Scott MP. Varicocele in childhood and adolescence: Implication in adulthood infertility? *Urology* 1982; 19:641–644.
- 19) Turek PJ. Erkek infertilitesi. In: Tanagha E, McAninch JW, Smith Genel Üroloji, Nobel Tıp Kitapevi, 2004, cilt 2, s. 686
- 20) MacLeod J. Seminal cytology in the presence of varicocele. *Fertil Steril* 1965; 16:735–757.
- 21) Pryor JL, Howards SS. Varicocele. *Urol Clin North Am.* 1987; 14(3): 499-513.
- 22) Vazquez-Levin MH, Friedmann P, Goldberg SI, Medley NE, Nagler HM. Response of routine semen analysis and critical assessment of sperm morphology by Kruger classification to therapeutic varicocelectomy. *J Urol* 1997; 158:1804-1807.
- 23) Seftel AD, Rutchik SD, Chen H, Stovsky M, Goldfarb J, Desai N. Effects of subinguinal varicocele ligation on sperm concentration, motility and Kruger morphology. *J Urol* 1997; 158: 1800-1803.
- 24) Segenreich E, Israilov SR, Shmueli J, Niv E, Servadio C. Correlation between semen parameters and retrograde flow into the pampiniform plexus before and after varicocelectomy. *Eur Urol.* 1997; 32(3):310-314.
- 25) Barbieri ER, Hidalgo ME, Venegas A, Smith R, Lissi EA. Varicocele-associated decrease in antioxidant defenses. *J Androl.* 1999; 20(6):713-7.

- 26) Schoenberg MH, Beger HG. Oxygen radikals in intestinal ischemia and reperfusion. *Chem. Biol. Interact.* 1990; 76, 141-161.
- 27) Parks DA, Granger DN, Ischemia-reperfusion injury: A radikal view. *Hepatology* 1988; 8(3), 680-682.
- 28) Kurtel H, Fujimoto K, Zimmerman BJ. Ischemia reperfusion induced mucosal dysfunction: Role of neytrophils. *Am. J. Phyiol.* 1991; 261:490-496.
- 29) Ferrari R. Oxygen-free radikals at myocardial level: Effects of ischemia and reperfusion. *Free radikals in diagnostic medicine*, Plenum Pres, New York, 1994; 99-111.
- 30) Hasselgren PO, Prevention and treatment of ischemia of the rat. *Surg. Gyn. Obst.* 1987; 164:187-196.
- 31) Koca Y, Ozdal OL, Celik M, Unal S, Balaban N. Antioxidant activity of seminal plasma in fertile and infertile men. *Archives of Anrology* 2003; 49(5):355-359.
- 32) Behre HM, Nashan D. Objective measurement of testicular volume by ultrasonography. *Int J Androl* 1991; 12:395.
- 33) McClure RD, Hricak H. Scrotal ultrasound in the infertile man: Detection of subclinical unilateral and bilateral varicoceles. *J Urol* 1986; 135:711-715.
- 34) Okhawa H., Ohishi N. and Yagi K., 'Assay for lipid peroxidase in animal tissues by thiobarbituric acid reaction'. *Annal. Biochem.*,95,351-358. 1979
- 35) Sharlip ID, Jarow JP, Bekler AM. AUA Best practice policy: Report on varicocele and infertility. 2001, vol:4
- 36) Çalışkan Z, Vuruşkan H, Kordan Y, Taş H, Yavaşcaoğlu İ, Oktay B. Kronik skrotal ağrıda sol varikoselektominin önemi. *Türk Üroloji Dergisi* 2004; 30 (4): 432-435
- 37) Jarow JP, Ogle SR, Eskew LA. Seminal improvement following repair of ultrasound detected subclinical varicoceles. *J Urol* 1996; 155:1287-1290.
- 38) Caskurlu T, Tasci AI, Resim S, Sahinkanat T, Ekerbicer H. Reliability of venous diameter in the diagnosis of subclinical varicocele. *Urologia Internationalis* 2003; 71(1):83-6.

- 39) Abdulmaaboud M R, Shokeir AA, Farage Y. Treatment of varicocele: A comparative study of conventional open surgery, percutaneous retrograde sclerotherapy and laparoscopy. *Urology* 1998; 58(2): 294-300.
- 40) Oktar T, Ahmedov I, Kadioğlu A. Varikosel Tedavisi 'Erkek reprodüktif sistem hastalıkları ve tedavisi' Türk Androloji Derneği Yayını, 2004; 463-472.
- 41) Cayan S, Kadioglu TC, Tefekli A, Kadioglu A, Tellaloglu S. Comparison of results and complications of high ligation surgery and microsurgical high inguinal varicoectomy in the treatment of varicocele. *Urology* 2000; 55(5):750-4.
- 42) World Health Organization. The influence of varicocele on parameters of fertility in a large group of men presenting to infertility clinics. *Fertil Steril* 1992; 57:1289-1293.
- 43) Wang C, McDonald V, Leung A, Effect of increased scrotal temperature on sperm production in normal men. *Fertil Steril*. 1997; 68:334-339.
- 44) Harrison RM, Lewis RW, Roberts JA, Pathophysiology of varicocele in non-human primates: long-term seminal and testicular changes. *Fertil Steril*. 1986; 46(3):500-510.
- 45) Ando S, Giacchetto C, Beraldi E, Progesterone, 17-OH-progesterone, androstenedione and testosterone plasma levels in spermatic venous blood of normal men and varicocele patients. *Horm Metab Res*. 1985; 17:99-103.
- 46) Mazzilli F, Rossi T, Marchesini M, Ronconi C, Dondero F. Superoxide anion in human semen related to seminal parameters and clinical aspects. *Fertil Steril* 1994; 62(4):862-8.
- 47) Gajnan C, Iwasaki A, De Lamirande E, Kavalski N. Reactive oxygen species and human spermatozoa. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 637:436-444.
- 48) Alkan I, Simsek F, Haklar G, Kervancioglu E, Ozveri H, Yalcin S, Akdas A. Reactive oxygen species production by the spermatozoa of patients with idiopathic infertility: Relationship to seminal plasma antioxidants. *J Urol* 1997; 157:140-143.

- 49) Lewis SE, Sterling ES, Young IS, Thompson W. Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. *Fertil Steril.* 1997; 67(1):142-7.
- 50) Kass EJ, Belman AB. Reversal of testicular growth failure by varicocele ligation. *J. Urol.* 1987; 137:475-476.
- 51) Aziz N, Salh RS, Sharma RK, Jones IL, Esfandiari N. Novel association between sperm reactive oxygen species production, sperm morphological defects, and the sperm deformity index. *Fertil Steril.* 2004; 81(2): 349-354.
- 52) Kessopoulou E, Tomlinson MJ, Barratt CL, Bolton AE, Cooke ID. Origin of reactive oxygen species in human semen: spermatozoa or leucocytes? *J Reprod Fertil.* 1992; 94(2): 463-70.
- 53) Chen SS, Huang WJ, Chang LS, Wei YH. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in leukocyte DNA of spermatic vein as a biomarker of oxidative stress in patients with varicocele. *J Urol* 2004; 172(4 Pt 1):1418-21.
- 54) Gümüş B, Uyanık BS, Lekili M, Yiğitoğlu MR, Temeltaş G, Büyüksu C. Varikoselli hastaların semen plazmasında antioksidan seviyesi. *Türk Üroloji Dergisi* 2001; 27(1): 73-76
- 55) Giannattasio A, De Rosa M, Zarrilli S, De Chiara M, Paesano L, Metafora S, Lombardi G. Glutathione peroxidase (GPX) activity in normal and pathological human seminal plasma. *Int. J. Androl.*,1997; 20 (1): 17
- 56) Romeo C, Ientile R, Santoro G, Impellizzeri P, Turiaco N, Impala P, Cifala S, Cutroneo G, Trimarchi F, Gentile C. Nitric oxide production is increased in the spermatic veins of adolescents with left idiopathic varicocele. *J Pediatr Surg.* 2001; 36(2): 389-93.
- 57) Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. *Biol Reprod.* 1989; 41(1): 183-97.
- 58) Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology* 1996; 48(6): 835-850.