



T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL TEK TARAFLI KRİPTORŞİDİZMLİ SIÇANLARDA
TESTİKÜLER MAST HÜCRELERİ VE FİBROZİSİN
ARAŞTIRILMASI**

İskender DURAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ

Gaziantep
2019

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

14.02.2019

İskender DURAN

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın bütün aşamalarında her zaman ve her konuda yardımlarını esirgemeyen danışman hocam ve Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ'ye, deney aşamasında unilateral kriptorşit modelin oluşturulmasında yardımcı olan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TÜRKER'e, teşekkürü bir borç bilirim.

Eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım hocalarım: Sayın Prof. Dr. Serap İNALÖZ DEMİR'e, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Nuray BOSTANCIERİ'ye teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca bana destek veren Arş. Gör. Hülya BİRİNCİ'ye, Büşra ŞEN'e Yük. Lis. Öğr. Muhammetnur TEKAYEV'e ve bütün çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nin Veteriner Hekimi Sayın Ahmet Sarper BOZKURT'a, Zootechnist Sayın Ahmet Faruk DEMİR'e ve tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Tezimin elektron mikroskobu çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen

Çukurova Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Sait POLAT'a, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Leman SENCAR'a ve Sayın Arş. Gör. Dr. Gülfidan COŞKUN'a teşekkür ederim.

Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyon Başkanlığı tarafından GÜ BAPYB-TF. YLT. 18. 12 numaralı proje ile desteklenmiştir. BAPY'ine desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Çalışmalarımın tüm aşamalarında bana maddi ve manevi destek veren, beni her konuda cesaretlendiren ve bana güvenen prenseslerimin annesi değerli eşim Evrim DURAN'a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGE VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
ÖZET	1
ABSTRACT.....	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Testisin Anatomisi	4
2. 2. Testisin Embriyolojisi.....	6
2.3. Testis Histolojisi	8
2.3.1. Seminifer tübül epitel.....	10
2.3.2. İnterstisyel alan	14
2.3.3. Spermatogenez.....	14
2.4. Testis Fizyolojisi.....	17
2.5. Mast Hücreleri	20
2.5.1. Mast Hücrelerinin Tarihçesi	20
2.5.2. Mast Hücrelerinin Morfolojisi	20
2.5.3. Mast Hücrelerinin Orjini.....	21
2.5.4. Mast hücrelerinin Alt Grupları	21
2.5.5. Mast Hücre Mediyatörleri.....	22

2.5.5.1. Mast Hücre Sekresyonunu Tetikleyen Faktörler	23
2.5.6. Mast Hücrelerin Rol Aldığı Fizyolojik Ve Patolojik Durumlar	24
2.5.7. Mast Hücre Fibrozis İlişkisi.....	24
2.6. Kriptorşidizm	25
2.6.1. Kriptorşidizmin Etiyolojisi	25
2.6.2. Kriptorşidizmin İnsidansı	25
2.6.3. Kriptorşidizmin Sınıflandırılması	25
2.6.4. Kriptorşidizmin Komplikasyonları	26
2.6.5. Kriptorşidizm Kanseri İlişkisi	26
2.6.6. Kriptorşidizm Tedavisi	26
2.6.7. Kriptorşidizm Fibrozis İlişkisi	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. Deney Hayvanları	28
3.2. Deney hayvan Gruplarının Oluşturulması	29
3.3. Cerrahi Yöntemin Gerçekleştirilmesi	29
3.4. Dokuların Alınması.....	32
3.6. Deney Hayvanlarının Testis Ağırlıklarının Ölçümü.....	33
3.7. Deney Hayvanlarının Testis Ağırlık İndeksinin Hesaplanması.....	33
3.8. Işık Mikroskopik İncelemeler	33
3.8.1. Bouin fiksatifin hazırlanması.....	33
3.8.2. Işık mikroskopik görüntü için dokuların hazırlanması	34
3.8.3. Dokulardan kesitlerin alınması ve boyama işlemi	34
3.8.4. İmmünohistokimyasal İncelemeler	37
3.8.5. Tübül Çapı Ölçümü	38
3.8.6. Fibrozisin Değerlendirilmesi	38
3.8.7. Peritübüler ve İnterstisyel Alan Fibrozis Değerlendirilmesi	38
3.9. Geçirimli Elektron Mikroskop Protokolü.....	39

3.10. İstatistiksel Analizler	40
4. BULGULAR.....	41
4.1. Morfometrik Bulgular.....	41
4.1.1. Vücut ağırlığı	41
4.1.2. Testis ağırlığı	42
4.1.3. Seminifer tübül çapı.....	44
4.1.4. Perivasküler fibrozis	45
4.1.5. İnterstisyel ve peritübüler alanların fibrozisi	46
4.1.6. Peritübüler ve interstisyel alan mast hücre sayısı	49
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	52
4.4. Elektron Mikroskopik Bulgular	61
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	68
KAYNAKLAR	75
EKLER.....	81
ÖZGEÇMİŞ	82

SİMGE VE KISALTMALAR

BDMH: Bağıdoku Mast Hücresi
DHT : Dihidrotestosteron
Ç: Çekirdek
G: Gram
IL-3: İnterlökin 3
IL-6: İnterlökin 6
LH: Leydig Hücresi
Lz: Lizozom
M: Mitokondriyon
Mg: Miligram
MIF: Müllerian İnhibe Edici Faktör
MMH : Mukozal Mast Hücresi
MH_T: Tryptase-Pozitif, Chymase-Negatif Mast Hücresi
MH_{TC}: Tryptase-Pozitif, Chymase-Pozitif Mast Hücresi
RMHP I: Mast Hücre Proteinaz I
My: Miyoid Hücre
MP: Membrana Propria
RMHP II: Rat Mast Hücre Proteinaz II
SCF: Kök Hücre Faktörü
SER: Agranüler Endoplazmik Retikulum
SH: Sertoli Hücresi
Spg: Spermatogonyum
Spt: Spermatosit
TAİ: Testis Ağırlık İndeksi
TNF a: Tümör Nekroz Faktör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Erkek üreme sistemi ve testisin yapısı [2]	5
Şekil 2. 2. Testisin yapısı [1]	6
Şekil 2. 3. Testiküler gelişim evreleri [3]	7
Şekil 2. 4. Testisin histolojik yapısı [3]	9
Şekil 2. 5. Seminifer tübülün epitel yapısı [3]	10
Şekil 2. 6. Sertoli hücre yapısı [3]	11
Şekil 2. 7. Spermatogenezis [6]	13
Şekil 2. 8. Spermiyogenezis [7]	16
Şekil 2. 9. Farklı yaş dönemlerinde plazma testosteron konsantrasyonu [2].....	18
Şekil 2. 10. Erkek üreme sisteminin hipofiz tarafından kontrolü [2]	19
Şekik 4. 1. Deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik	42
Şekik 4. 2. Testis ağırlıklarının deney sonrası gruplar arası karşılaştırmayı gösteren grafik.....	43
Şekik 4. 3. Sağ ve sol testis seminifer tübül çapının gruplar arası karşılaştırılması.....	45
Şekik 4. 4. Deney ve kontrol grubuna ait sol ve sağ testis damar etrafındaki perivasküler fibrozis kalınlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik.....	46
Şekil 4. 5. Sol ve sağ testis interstisyel alan fibrozis indeks değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik.....	48
Şekil 4. 6. Sol ve sağ testis peritübüler alan fibrozis indeks değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik.....	48
Şekil 4. 7. Kontrol ve kriptorşid grubunun sol ve sağ testis intersitisyel alandaki ortalama mast hücre sayısını gösteren grafik.....	51
Şekil 4.8. Kontrol ve kriptorşid grubunun sol ve sağ testis peritübüler alandaki ortalama mast hücre sayısını gösteren grafik.....	66

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Fare, sıçan ve insanda mast hücre çeşitleri ve ganül içeriği [28].	22
Tablo 2.2. Temel Mast Hücre Medyatorları ve Biyolojik Etkileri[29].	23
Tablo 3.1. Doku Takibi Cihazının Protokolü	34
Tablo 3.2. Hematoksilen-Eozin Boyama Aşamaları	35
Tablo 3.3. Masson's Trikrom Boya Çözeltisi	35
Tablo 3.4. Masson's Trikrom (TRI) boyama takip işlemleri	36
Tablo 3.5. Toluidine Mavisi Boyama Protokolü.	36
Tablo 4.1. Deney gruplarına ait sıçanların vücut ağırlıkları (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri	41
Tablo 4. 2. Deney gruplarına ait hayvanların sağ ve sol testis ağırlıkları (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri	43
Tablo 4. 3 Deney gruplarına ait hayvanların sağ ve sol testis seminifer tübül çaplarının ortalaması ve standart sapması	44
Tablo 4. 4. Deney gruplarına ait hayvanların sol ve sağ testis damar etrafındaki fibrozis kalınlıkları (Ortalama $\pm$ SD) gruplar ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri	45
Tablo 4. 5. Sol ve sağ testis interstisyel alandaki fibrozis indeksinin gruplar arası karşılaştırmanın p değerleri, ortalama ve standart sapmaları	47
Tablo 4. 6. Sol ve sağ testis peritübüler alandaki fibrozis indeksinin gruplar arası karşılaştırmanın p değerleri, ortalama ve standart sapmaları	47
Tablo 4. 7.Kontrol ve kriptorşid grubunun sol ve sağ testis interstisyel alandaki mast hücre sayı ortalaması ve standart sapması	50
Tablo 4. 8. Kontrol ve kriptorşid grubunun sol ve sağ testis peritübüler alandaki ortalama mast hücre sayısı ve standart sapması	50

RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1. Çalışmamızda kullanılan hayvanlardan birine örnek	28
Resim 3.2. Deri kesildikten sonra ortaya çıkan gubernakulum.	30
Resim 3.3. Sol gubernakulum kendi içine ters-yüz edilerek dış inguinal halkadan karın boşluğu içine tekrar geri itilmesi	31
Resim 3.4. Sol gubernakulum dış inguinal halka ile birlikte, erimeyen 7/0 ipek iplikle dikildi.	31
Resim 3.5. Deri 5/0 eriyebilen iplikle dikildi	32
Resim 3.6. ImageJ 1.51K Analiz Programı	38
Resim 4. 1. Kontrol grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü H-E, 40x.....	53
Resim 4. 2. Kontrol grubuna ait sağ testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü H-E, 40x.....	54
Resim 4. 3. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü H-E, 40x.....	54
Resim 4. 4. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü H-E,40x.....	55
Resim 4. 5. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü H-E,40x.....	55
Resim 4. 6. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü TRI,40x.....	56
Resim 4. 7. Deney grubuna ait sol testisdokusunun ışık mikroskopik görüntüsü TRI,40x	56
Resim 4. 8. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü TRI,40x	57
Resim 4. 9. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü TRI,40x	57
Resim 4. 10. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü Toluidin mavisi,40x	58
Resim 4. 11. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü Toluidin mavisi,40x	58

Resim 4. 12. Testis negatif kontrol boyama x40	59
Resim 4. 13. Tonsil pozitif kontrol boyama x40	59
Resim 4. 14. Kontrol grubu sol testis interstisyel alan x40	60
Resim 4. 15. Kripto grubu sol testis interstisyel alan x40	60
Resim 4. 16. Kriptorşid grubu sol testis tunika albuginea altı x40	61
Resim 4. 17. Sağ testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü.....	63
Resim 4. 18. Sağ testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü.....	64
Resim 4. 19. Sağ testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü.....	64
Resim 4. 20. Sağ testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü.....	65
Resim 4. 21. Kriptorşid grubu Sol testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü.	65
Resim 4. 22. Sol testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü.. ..	66
Resim 4. 23. Sol testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü.. ..	66
Resim 4. 24. Sol testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü.. ..	67

ÖZET

DENEYSEL TEK TARAFLI KRIPTORŞİDİZMLİ SIÇANLARDA TESTİKÜLER MAST HÜCRELERİ VE FİBROZİSİN ARAŞTIRILMASI

İskender DURAN

Yüksek Lisans Tezi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Tez danışmanı Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ

Tedavi edilmemiş inmemiş testislerde çeşitli komplikasyonların yanı sıra fibrozis de önemli bir sorundur. İnmemiş testiste bir yaşından sonra fibrozis önemli derecede artar. Fibrozisin artması bazal membran kalınlaşmasına ve germ hücre sayısında azalmaya sebep olmaktadır. Fibrozis, etkilenmiş testiste fonksiyonel parankimanın yerini almaktadır. Mast hücreleri fibrozis gelişiminde rol oynar ve germ hücre hasarıyla ilişkili olabilir.

Bu çalışmada deneysel kriptorşidizmlı sıçanlarda testiküler mast hücreleri ve fibrozis arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda 15-17 günlük tane erkek Sprague Dawley türü sıçan kontrol ve kriptorşid grupları olmak üzere 2 eşit gruba ayrıldı. Deney hayvanlarının kriptorşidizm modeli oluşturulduktan 15 gün sonra testisleri alındı. Alınan testis dokuları ışık mikroskopik ve elektron mikroskopik incelemelere ek olarak Anti Mast Cell Tryptase Antikoru kullanarak immünohistokimya yöntemi ile boyanarak mast hücre sayısı değerlendirildi.

Çalışmamızda kriptorşidik testislerde interstisyel alanda seminifer tübüllerin birbirinden uzaklaşması, germ hücrelerin bazal membrandan ayrılması, perivasküler fibrozis, ödem, konjesyon, hemoraji, interstisyel alanda ve peritübüler alanda fibrozisin artışı, seminifer tübül çaplarında ise azalma gözlemledik.

Çalışmamızda mast hücre sayısı ile fibrozis arasında pozitif yönde bir korelasyon olduğunu tesbit ettik.

Anahtar Kelimeler: Kriptorşidizm, mast hücresi, fibrozis, sıçan

ABSTRACT

INVESTIGATION OF TESTICULAR MAST CELLS AND FIBROSIS IN RATS WITH EXPERIMENTAL UNILATERAL CRYPTORCHIDISM

İskender DURAN

Master of Science Thesis, Department of Histology and Embryology

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ

In addition to various complications, fibrosis is an important problem in undescended testes. Fibrosis is significantly increased after one year of age in undescended testis. Due to the increase in fibrosis, it causes basal membrane thickening and decrease in germ cell number. Fibrosis replaces the functional parenchyma in the affected testis. Mast cells play a role in the development of fibrosis and may be associated with germ cell damage.

In this study, we aimed to investigate the relationship between testicular mast cells and fibrosis in rats with experimental cryptorchidism.

In our study, 10 male Sprague Dawley rats aged 15-17 days were divided into 2 equal groups as control and cryptorchid groups. The testes of the experimental animals were taken 15 days after the cryptorchidism model. In addition to light microscopic and electron microscopic examinations of the testicular tissues, mast cell number was also determined by immunohistochemistry method using anti mast cell tryptase antibody.

In our study, we observed the distancing of the seminiferous tubules in the interstic region of the cryptorchidic testes, the separation of germ cells from the basement membrane, perivascular fibrosis, edema, congestion, hemorrhage, increased interstitial area and fibrosis in the peritubular area, and decreased seminiferous tubule diameters.

In our study, we found a positive correlation between the number of mast cells and fibrosis.

Keywords: Cryptorchidism, mast cell, fibrosis, rat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kriptorşidizm, erkek genital sisteminde en sık görülen konjenital anomalilerden biridir. Yeni doğanların yaklaşık olarak %1'inde görülmektedir. Kriptorşidizmde multifaktöriyel etkenler rol almaktadır. Hormonal tedavilere göre 6-18 aylık dönemde yapılan operasyonların (orşidopeksi) daha iyi sonuç verdiği rapor edilmiştir. Palpe edilemeyen testislerin yönetiminde standart yaklaşım olarak %80-90 başarı oranı ile diagnostik laparoskopi uygun görülmüştür (1).

Kriptorşidizm; azalmış fertilitateye, testiküler maligniteye, testiküler torsiyona ve travmalara yine bununla ilişkili inguinal hernilere veya psikolojik sorunlara yol açabildiğinden üzerinde durulması gereken önemli bir klinik durumdur. Tedavi edilmeyen kriptorşidizm vakalarında infertilite sık görülür. İnmemiş testislerde fibrosizin önemli derecede arttığı bildirilmiştir.

Mast hücreleri yaygın olarak, gevşek bağ dokusunun bulunduğu hemen her yerde bulunabilen hücrelerdir. Mast hücrelerinin enflamatuvar, nonspesifik reaksiyonlar, fibrozis, anjiyogenezis, yara iyileşmesi, allerjik reaksiyonlar gibi fizyolojik ve peptik ülser, ülseratif kolit, ürtikerya pigmentosa, skleroderma, hipertansiyon, interstisyel akciğer hastalıkları gibi patolojik bir çok olayda rolleri vardır.

Mast hücrelerinin fibroblast çoğalmasını ve kollajen sentezini indükleyerek fibrozise neden olduğu bildirilmiştir (2). İnsan ve hayvan in vitro çalışmalarında mast hücrelerinin, proteazları (kimaz ve triptaz) içerdiği ve fibroblast çoğalmasını indüklediği gösterilmiştir.

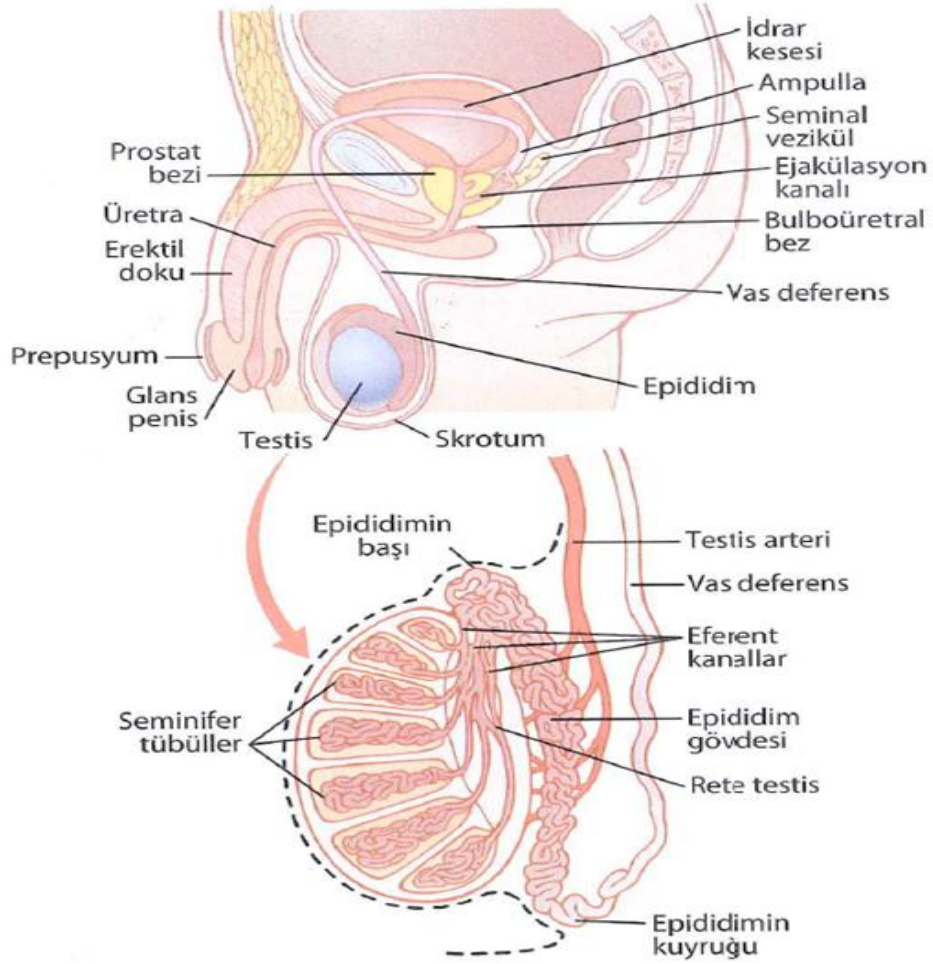
Bir çok çalışmada infertil yetişkinlerde testiküler mast hücresi ve fibrozis arasında bir ilişki olduğu öne sürülmektedir. Fibrosiz hem mast hücreleri ile hem de inmemiş testis ile ilişkilendirilen bir patolojidir. Bu çalışmada deneysel tek taraflı kriptorşidizimli sıçanlarda testiküler mast hücreleri ve fibrozis araştırılarak, bunlar arasındaki etkileşmelerin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testisin Anatomisi

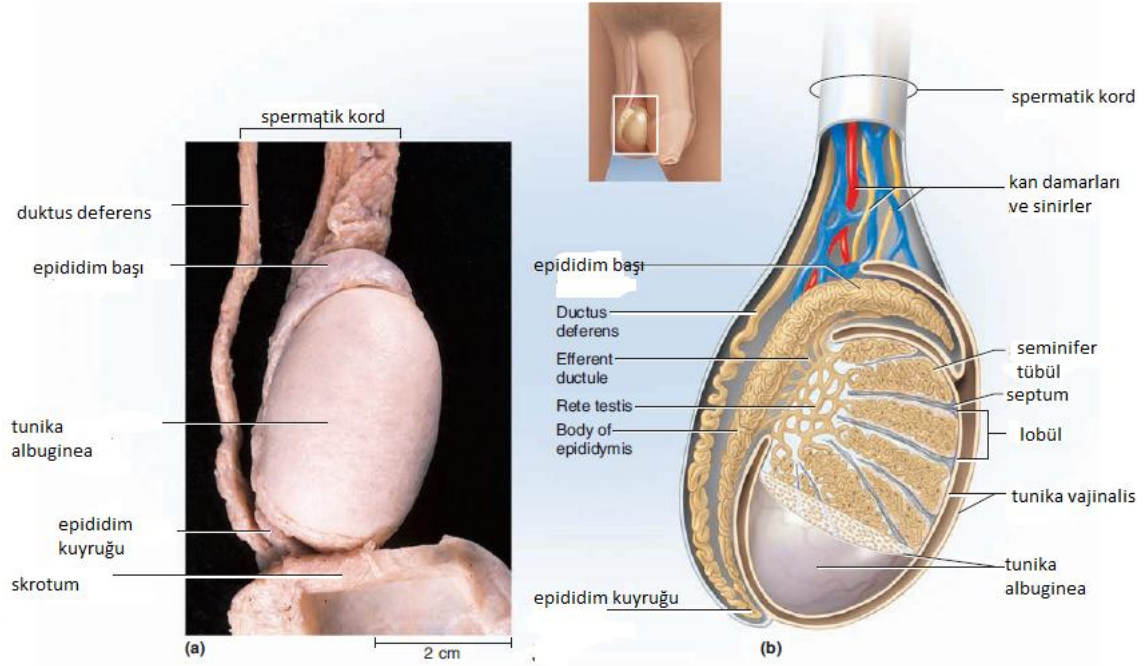
Testisler skrotum denilen torba içinde vücut dışında yerleşmişlerdir. Bu yerleşimin sağlıklı spermatogenezis fizyolojisi için gerekli olan vücut sıcaklığından 2-3 °C 'lik daha düşük ısıda olması açısından önemi vardır. Erkek gonadı olan testis endokrin ve ekzokrin fonksiyona sahip, seks hormonları ve sperm üretmek ile görevli bir organdır. Herbir testis yaklaşık 4 cm uzunluğunda, 3 cm kalınlığında ve 2.5 cm genişliğinde oval ve hafif basık şekilli erkek üreme organıdır. Erkek üreme sistemi testislerden, genital boşaltım kanallarından, cinsiyet bezlerinden ve penisten oluşmaktadır (**Şekil.2.1**). Cinsiyet bezleri vezikula seminalisler, prostat ve bulboüretral bezlerden oluşmaktadır (3).

Testisler gubernakulum kalıntıları olan skrotal ligamentlerle ön karın duvarında muskulofasiyal bir cilt kesesi içerisinde asılı konumdadır. Testisler çok kalın bağ dokusu yapısında kapsül olan tunika albuginea tarafından sarılmıştır. Kapsülün iç kısmında yer alan tunika vasküloza, bol kan damarları içeren gevşek bağ dokusu yapısındadır. Testislerden herbiri kapsülden uzanan bağ dokusu yapısında olan septumlar tarafından yaklaşık 250 lobüle ayrılmaktadır. Her bir lobül ise çok kıvrımlı içinde sperm üretilen 1 ile 4 arasında seminifer tübül içermekte ve bu tübülü çevreleyen bağ dokusu yapısındaki stromadan meydana gelmektedir. Seminifer tübüllerin arasında bulunan interstisyel alanda, bağ doku hücrelerinin yanı sıra, cinsiyet hormonları salgılayan Leydig hücreleri de bulunur. Her bir testiste toplam uzunluğu 280 ile 400 metre arasında olan, 600 ile 1200 kadar seminifer tübül bulunmaktadır.



Şekil 2. 1. Erkek üreme sistemi ve testisin yapısı (4)

Lobül içinde halka yapan her bir tübül uzun olduğu için çok kıvrımlı ve katlantılıdır. Bu halkanın uçları testisin mediastinumuna yakın olduğundan burada düz ve kısa bir yol takip eder, bu bölüm düz tübül olarak adlandırılmaktadır. Düz tübüller mediastinumda anastomozlaşarak kanallar sistemi olan rete testis ile devam eder. Testisin arka yüzeyi boyunca tunika albuginea tabakası kalınlaşarak mediastinum testis olarak uzanır. Lenf damarları, kan damarları ve boşaltım kanalları testise girerken ve çıkarken mediastinumdan geçer (5).



Şekil 2. 2. Testisin yapısı (3)

Testisler kan ihtiyacını abdominal aorttan kaynaklanan testiküler arterlerden sağlar. Testiküler arterler testise yakın bölgede kıvrıntılı bir hal alır ve testisten abdominal venlere kanı taşıyan pampiniform venöz pleksus ile sarılmış durumdadır. Böylece arter kanı dönen venöz kan ile soğutularak testislerin normal vücut sıcaklığından 2-3 °C daha düşük tutulması sağlanır (5).

2. 2. Testisin Embriyolojisi

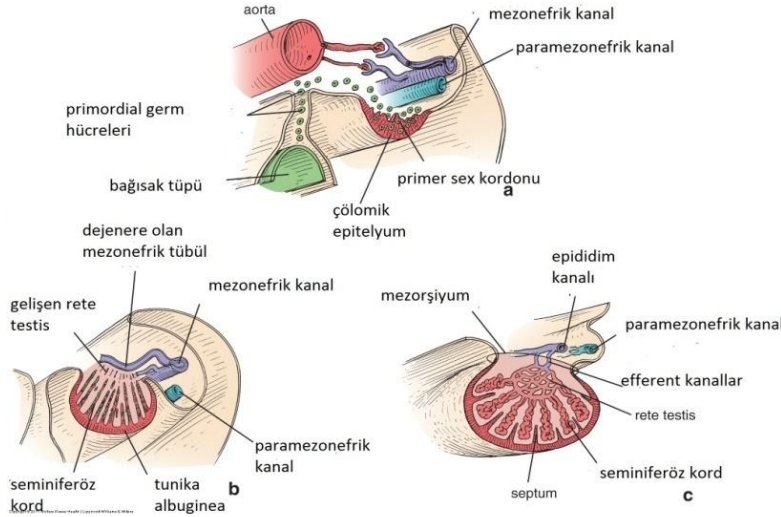
Döllenme sırasında Y kromozomunun varlığına bağlı olarak genetik cinsiyet tayin edilir. Gelişimin 7. haftasına kadar testisler oluşmaz. Y kromozomunun kısa kolu üzerinde bulunan cinsiyet belirleyici faktör olan SRY geni gonadal cinsiyeti belirler. Erkek gonadlarının karmaşık gelişimine Y kromozomunda kodlanan bilgi tek başına yeterli değildir. SRY geni otozomal 9, 11, 17 ve 19 numaralı kromozomlarda ve X kromozomunda bazı genlerin aktivasyon zincirini kontrol eden bir ana şalter gibi çalışmaktadır.

Gonadal gelişimin ilk aşamaları olan mezonefrozun medialindeki mezotelyal kalınlaşma, primitif böbrek gelişimi ile birlikte 5. haftada ortaya çıkar. Bu epitelin ve altında bulunan mezenkimin çoğalması ile mezonefrozun medialinde gonadal kabartı ortaya çıkar. Parmak şeklindeki epitelyal kordonlar, altında bulunan mezenkim içerisine

doğru hızlı bir şekilde büyürler. Farklanmamış gonad, içte yer alan medulla ve dışta yer alan korteksten meydana gelir.

Şayet embriyo XX cinsiyet kromozomuna sahipse farklanmamış gonadın korteksi overe dönüşür, medullası ise gerilemeye başlar.

Eğer XY sex kromozomunu içeriyorsa medulla testise farklanır, korteks ise gerilemeye başlar (6).



Şekil 2. 3. Testiküler gelişim evreleri (5)

Testisler karın arka duvarında gelişir ve daha sonra skrotum denilen kese içine inerler. Gonadlar (testisler ve overler) sperm ve oositin üretiminden sorumludur ve üç temel kaynaktan köken alırlar:

1. Ara mezoderm, karın arka duvarındaki ürogenital kabartıları yapar, Leydig hücrelerinin ve miyoid hücrelerin kaynağıdır.
2. Mezodermal (çöломik mezotelyum) epitel, Sertoli hücrelerinin yapım kaynağı ve ürogenital kabartıların döşemesinden sorumludur.
3. Primordiyal germ hücreleri, yolk kesesinden gelişmekte olan gonadlara göç eder, burada bölünür ve böylece spermatogonyumlara dönüşürler.

Genital kabartılara göç eden primordial germ hücreleri, ürogenital kabartılardaki mezodermal hücreleri ve çöломik mezotelyum hücrelerini çoğaltma ve primer sex kordonlarını oluşturmak için indüklerler.

Primer sex kordonları seminifer tübüleri, düz tübüleri ve rete testisi oluşturacak olan seminifer kordonlara farklılaşır .

Seminifer kordonları ayıran mezenkim, erkek gelişiminin erken evresinde farklılaşmamış primordiyumun testise gelişimini uyaran, testesteronu üreten Leydig hücrelerini oluşturur. Testosteron mezonefrik wolff kanallarının büyümesini ve farklılaşmasını sağlar. Seminifer kordonların içerisinde gelişen sertoli hücreleri önemli bir hormonal madde olan müllerian-inhibe edici faktörü (MIF) üretirler. Glikoprotein yapısında olan MIF, paramezonefrik kanaldaki hücre bölünmesini baskılayarak dişi üreme organlarının gelişimini inhibe eder (5).

Testosteronun dönüşüm ürünü olan dihidrotestosteron (DHT) etkisi ile dış genital organlarının gelişimi ve farklılaşması 5 α -redüktaz sayesinde eş zamanlı olarak gerçekleşir. DHT bulunmadığı zaman genetik ya da gonadal cinsiyet fark etmeksizin dış genital organlar dişi taslağı yönünde gelişir. Erkek embriyoda testosteronun, MIF'ın ve DHT'nın ortaya çıkması hormonal cinsiyetin belirlenmesini sağlar (5).

Yaklaşık olarak gebeliğin 26. haftasında testisler abdomenden skrotuma inmeye başlar. Testislerin bu göçünü sağlayan, gelişmekte olan skrotum ile testisin inferiyor kutbu arasında bağlantıyı yapan testostereona duyarlı ligament olan gubernakulumun kasılması ve abdominal kavitenin gelişimidir. Testisler karın boşluğu ile skrotum arasındaki inguinal kanaldan geçerek skrotuma inerler. Gonadlar (testisler) inişleri sırasında temel boşaltıcı kanalları olan duktus deferensin yanı sıra lenf damarlarını, kan damarlarını ve sinirleri de beraberinde götürürler (5).

2.3. Testis Histolojisi

Testisler, spermatogenezisin gerçekleşmesi için olması gereken 34°C - 35°C'yi sağlamak için vücut boşluğu dışında yer alan skrotum içerisinde yerleşmiş bir çift organdır. Her bir testis ön karın duvarının tabakaları olan ve skrotum içerisine uzanan muskulofasiyal kesenin ucunda asılı durumdadır. Testisler spermatik kordonlar tarafından karın duvarına bağlı ve gubernakulumun kalıntıları olan skrotal ligamentlerle skrotuma bağlanmıştır.

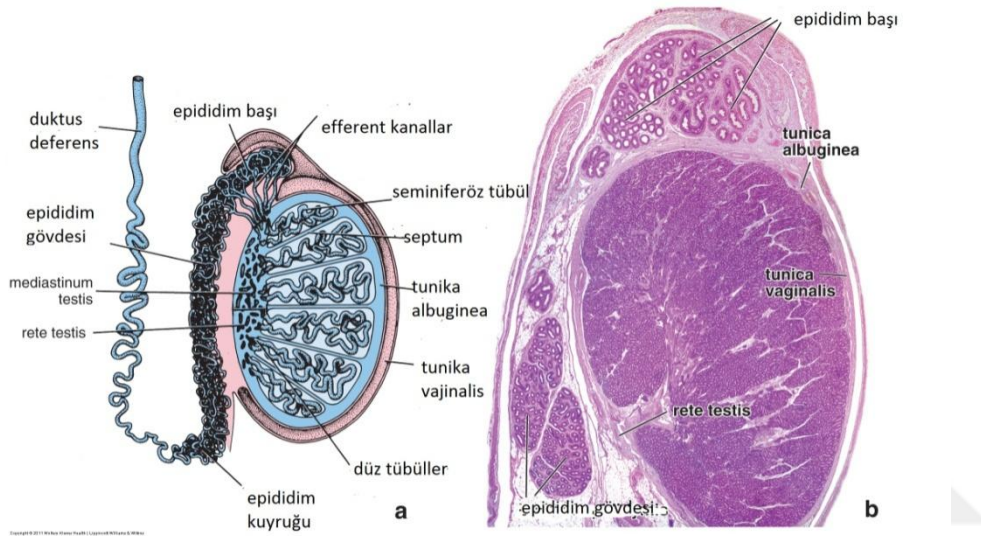
Testisler dıştan bağ dokusu yapısında bir kapsül ile çevrelenmiştir. Bu kapsül 3 temel tabakadan oluşmaktadır.

1-Tunika vaginalis: En dışta yer alan ve düzleşmiş çöломik mezotelyum hücrelerinden (mezotelyal hücrelerden) oluşan bir tabakadır. Kapalı seröz kesenin visseral tabakası peritondan köken alır ve testisin ön ve yan yüzlerini sarar. Aynı zamanda yüzeyde

skrotum altında uzanan tunika vaginalisin paryetal tabakası vardır. Visseral ve paryetal tabakalar arasındaki seröz boşluk testislerin serbestçe hareket etmesini sağlar.

2-Tunika albuginea: Testis kapsülünün en belirgin tabakasıdır ve bazal lamina ile tunika vaginalisten ayrılmıştır. Bu tabaka düz kas hücreleri içeren yoğun fibroelastik bağ dokusundan meydana gelir. Testisin epididimise yakın olduğu arka yüzde düz kas hücreleri daha yoğun bir şekilde bulunur.

3-Tunika vasküloza: Testisi saran kapsülün en iç tabakası olan bu tabaka kan damarları ağlarından zengindir.



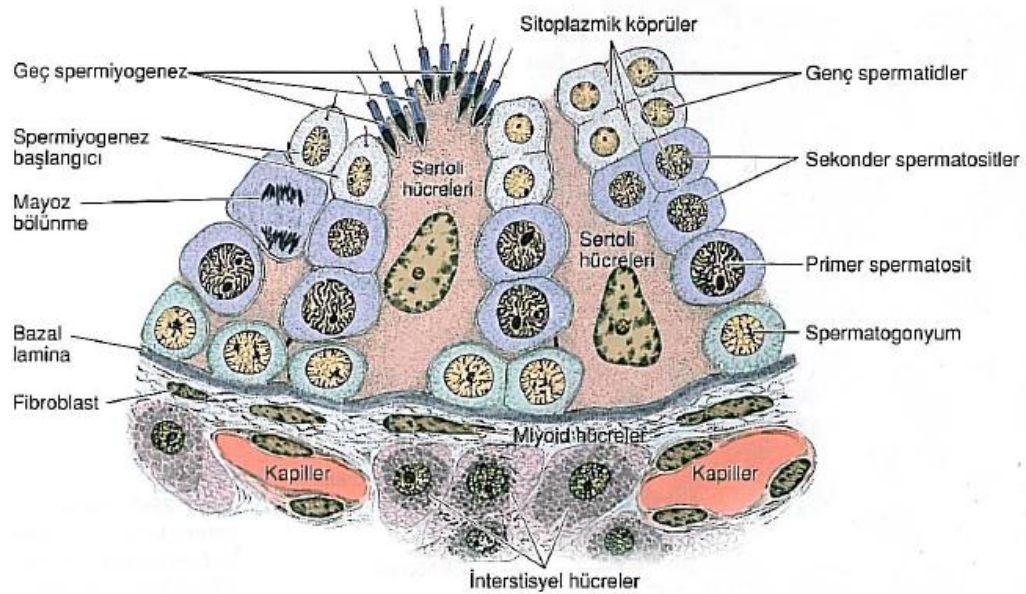
Şekil 2. 4. Testisin histolojik yapısı (5)

Tunika albuginea testisin arka yüzeyinde kalınlaşır ve mediastinum testis olarak organın içerisine girer. Mediastinum testisten yüzeye doğru ince, fibröz uzantılar vererek testisin iç kısımlarını sayıları yaklaşık olarak 250 kadar olan piramidal bölümlere ayırır. Meydana gelen bu yapılara lobül adı verilmektedir. Testis lobüllerinin apeksleri mediastinuma doğru uzanmaktadır. Bu lobüllerde yaklaşık 1 ile 4 arasında değişen kıvrıntılı seminifer tübüller bulunmaktadır.

Seminifer tübüllerin mediastinum testis içinde bulunan düz kısımlarına düz tübüller adı verilir. Düz tübüller, rete testis olarak adlandırılan anastomazlaşan kanallar sistemi ile devam eder (5).

2.3.1. Seminifer tübül epiteli

Seminifer tübüller kıvrıntılı ve yaklaşık olarak 150 ile 200 µm çapa sahip, 30-80 cm uzunluktadır. İnce bir bazal lamina üzerine oturmuş epitel, özelleşmiş fibröz yapısında olan bir doku ile dıştan sarılmıştır, bu bölüme peritübüler doku adı verilir. Seminifer epitel spermatogenez hücreleri, Sertoli hücreleri ve miyoid hücrelerden oluşmaktadır.



Şekil 2. 5. Seminifer tübülün epitel yapısı (5)

2.3.1.1. Miyoid hücreler

Tunika propriya seminifer tübülün bazal laminasının dışında 3 ile 5 tabaka arasında değişen miyoid hücreden ve kollajen fibrillerden meydana gelmektedir. Miyoid hücreler bol miktarda aktin filamanları içerdiği için düz kas hücreleri gibi özellik taşırlar. Miyoid hücrelerin ritmik kasılmaları sayesinde spermatozoanın ve testiküler sıvının seminifer tübüllerden boşaltım kanallarına akışını sağlayarak peristaltik dalgalanmalar oluştururlar. Miyoid tabakanın dışında lenf damarları, kan damarları ve Leydig hücrelerini de içeren, interstisyel alan bulunur.

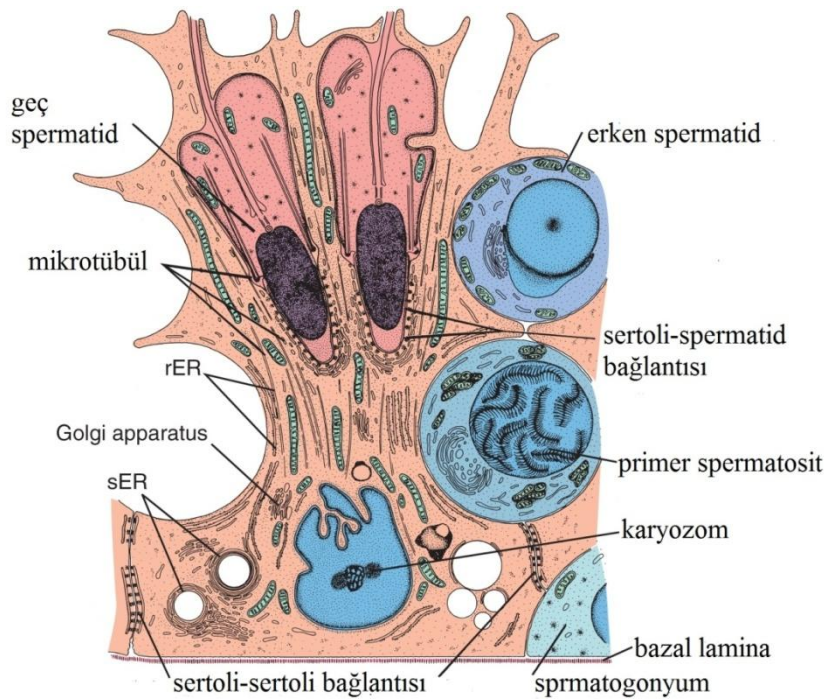
Yaşlanma ile beraber tunika propriya kalınlaşmakta ve bu kalınlaşma sperm üretim hızında düşüşe sebep olurken seminifer tübül boyutunda azalmaya da sebep olmaktadır. Erken yaşlarda bu tabakadaki kalınlaşma daha çok infertilite ile ilişkilidir (5).

2.3.1.2. Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri, puberteden sonra çoğalma özelliği olmayan destek hücreleri ya da sustentaküler hücreler olarak bilinir. Uzun ve prizmatik şekilli replike olmayan bu hücreler seminifer epitelin çok tabakalı bazal laminası üzerine oturmuştur.

Sertoli hücreleri sahip olduğu apikal ve lateral hücre membranları sayesinde spermatogenez hücrelere kriptalar sağlar. Çekirdek oval ya da üçgen şekle sahip soluk ve büyüktür. Bir iki belirgin çekirdekçik içerir. Çekirdekçik çok belirgin, merkezi asidofil periferinde ise bazofil materyal kümeleri bulunmaktadır. Sitoplazma retiküler görünümde, içerisinde küçük fibriller, lipid damlacıkları ve küçük uzamış mitokondriyonlar bulunur.

Spermatogenez hücreler, düzenli bir şekilde çoğalan ve olgun sperme farklılaşan seminifer tübülü döşeyen çok katlı epiteli oluştururlar. Spermatogenez hücreler, testisin erken gelişim döneminde yolk kesesinden köken alan primordiyal germ hücrelerinden gelişirler. Bu hücreler komşu Sertoli hücrelerinin arasında çok belirgin olmayan tabakalar halinde bulunur. Spermatogenez hücreler bazal laminanın üzerinde uzanırken, spermatitler ise Sertoli hücrelerinin apikal bölümüne tutunmuşlardır ve seminifer tübül lümenin sınırını meydana getirirler (7).



Şekil 2. 6. Sertoli hücre yapısı (5)

Sertoli hücrelerinin başlıca görevleri şunlardır:

- Spermatonegenik hücreleri için gerekli besin ve fiziksel desteği sağlar.
- Sitoplazmik artıkları fagosit eder.
- Fruktozca zengin bir sıvı sentezleyip salgılar.
- Birbirleri ile yaptıkları sıkı bağlantılar (zonula okludens) ile spermatogenik hücreleri içinde barındırarak kandaki savunma hücrelerinin otoimmünitesinden korur.
- Antimüllerian hormon (MIF) ile embriyogeneziste ovaryum gelişmesini engeller (7).

2.3.1.3. Spermatogonyumlar

Germ hücreler olarak ta bilinen spermatogenik hücreler derinliği 4 ile 8 hücre arasında değişen ve seminifer tübülü döşeyen çok katlı epiteli oluştururlar. Spermatogenik hücreler çoğalarak seminifer tübülün bazalinden lümenine doğru hareket ederler. Seminifer tübülün lümenine en yakın olanlar spermatozoonlara dönüşerek epitelden ayrılır. Gerçekleşen bu duruma spermatogenezis denilir. Spermatogonyumlar çekirdeklerin görünümü baz alınarak 3 tipe ayrılır.

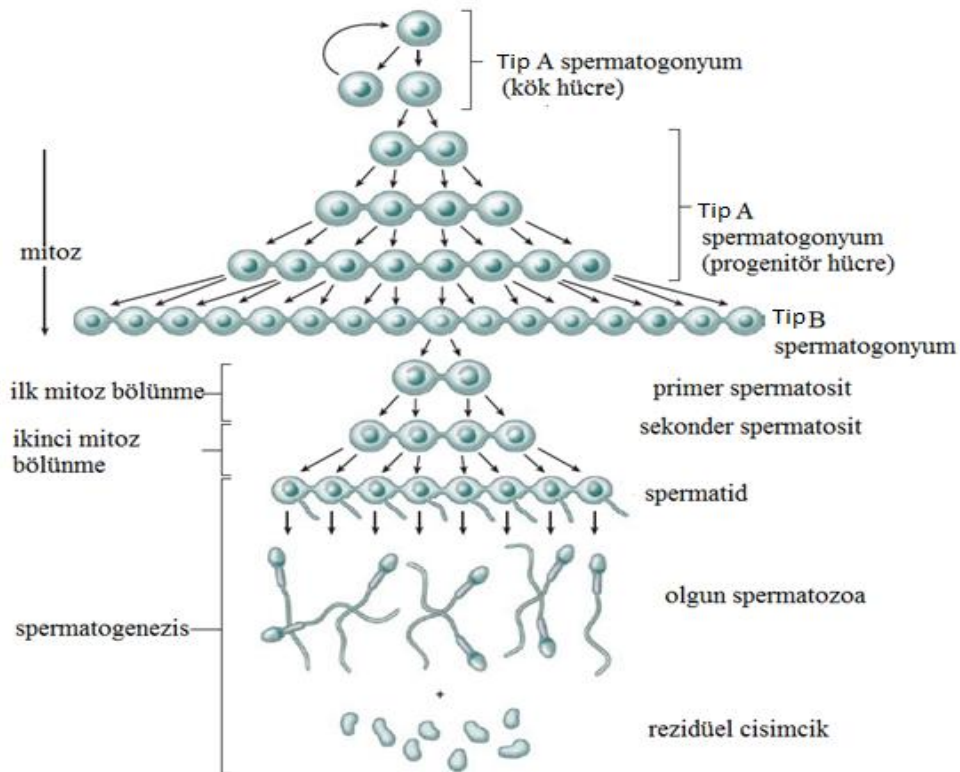
1. Tip A koyu (Type A dark) spermatogonyumlar: Koyu boyanan oval çekirdeklere sahiptir ve aynı zamanda kök hücre görevi de görür. Belli olmayan aralıklarla bölünerek kök hücre olarak varlığını sürdüren bir çift tip Tip A koyu ya da Tip A açık spermatogonyumları meydana getirir.
2. Tip A açık (Tip A pale) spermatogonyumlar: Açık renkte boyanan ince kromatinli oval çekirdeklere sahiptir. Ardışık birkaç mitotik bölünme geçirerek spermatogonyumların sayısını korurlar ve aynı zamanda Tip A açık spermatogonyumları oluştururlar. Bu hücreler spermi üreten farklılaşma sürecine yönlendirilmişlerdir.
3. Tip B spermatogonyumlar nüklear membrana yakın bulunan koyu boyanmış kromatin yığınları içeren küresel çekirdekleri bulunur. Tip B spermatogonyumlar mitoz ile bölündüklerinde meydana gelen hücrelerin hepsi primer spermatositlere differansiye olurlar (5).

2.3.1.4. Primer ve sekonder spermatositler

Tip B spermatogonyumlar mitoz bölünmelerle primer spermatositleri oluşturur. Primer spermatositler en büyük germ hücreleridir. Epitelin orta kısmında bulunan bu hücreler mayoz bölünme ile her bir yavru hücre ya da sekonder spermatosite 23 kromozom (22+X veya 22+Y) aktarırlar. Mayotik bölünmede sitokinezis tam gerçekleşmediği için oluşan sekonder spermatositler bir protoplazmik köprü ile birbirlerine bağlı bulunurlar. Birbirlerine bağlı iki sekonder spermatosit tekrar mayoz bölünme geçirerek 4 yeni hücre (spermatid) oluşur (5).

2.3.1.5. Spermatidler

Sekonder spermatositlerin mayotik bölünmesi sonucu oluşan spermatidler DNA içeriği olarak haploiddir. (1d) ve (1n) olan kromozom sayısı 22 otozom ve bir cinsiyet (X ya da Y) kromozomu tarafından temsil edilmektedir. Haploid spermatidler, artık bölünmeden olgun spermi oluşturan bir farklılaşma sürecine başlarlar (5).



Şekil 2. 7. Spermatogenezis (8)

2.3.2. İnterstisyel alan

Testis lobülleri içerisinde interstisyel doku, seminifer tübüller arasında yer alır. İnterstisyel alanda kollajen lifler, kan ve lenf damarları, sinir lifleri, fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri, farklılaşmamış mezenşimal hücreler ve Leydig hücreleri bulunmaktadır.

2.3.2.1. Leydig hücreler

Leydig hücreleri büyük poligonal eozinofilik hücrelerdir; genellikle seminifer tübüller arasındaki üçgen şekle sahip alanlarda, daha çok kümeler halinde bulunurlar. Sitoplazmaları ışık mikroskopunda genellikle vakuollü görünümündedir.

Çekirdekte bulunan kaba kromatin granüller ve belirgin çekirdekçik dikkati çekmektedir. İki çekirdeğe sahip Leydig hücreleri de görülmektedir. Sitoplazmada bol miktarda inklüzyon bulunur. İnküzyonlar arasında en çok bulunan lipid damlacıklarıdır. İnsanda, sitoplazmada ayrıca çubuk şekilli lipofuksin pigmenti ile kristalloidler de görülebilir; bunlara Reinke kristalleri adı verilmektedir.

Fetal hayatta Leydig hücreleri farklanarak testosteron salgılamaya başlarlar. Embriyonik dönemde testosteronun üretimi gonad gelişimi için şarttır. Pubertede ise Leydig hücreleri sperm üretiminin başlaması, aksesuar bezlerin sekresyonu ve sekonder cinsiyet karakterlerin oluşumundan sorumludur. Erken dönemde farklanan bu hücreler fetal dönemin 5. haftasında inaktif durumda olur. Leydig hücreleri pubertede salınan gonadotropinlerin etkisi altında tekrar aktif hale geçerler ve androjen salgılamaya başlarlar.

2.3.3. Spermatogenez

Spermatogenez, spermatogonyumlardan sperm gelişimi sürecidir. Spermatogenezde kompleks ve eşsiz olaylar serisi gerçekleşmektedir. Spermatogenez, puberteden kısa bir süre önce hipofiz bezinden salgılanan gonadotropinlerin etkisi ile başlar ve yaşam boyunca bu döngü devam eder. Spermatogenezisi spermatogonyum, spermatosit ve spermatid hücrelerinin bulunduğu 3 evrede özetlemek mümkündür.

2.3.3.1. Spermatositogenez fazı

Spermatogonyumlar mitoz bölünme ile kendi yerlerine geçecek olan hücreleri oluştururken aynı zamanda primer spermatositlere farklılaşacak olan spermatogonyum hücrelerini de oluştururlar. Spermatogonyumlar bölünerek ya kök hücre olarak devam eden bir çift Tip A koyu spermatogonyum ya da bir çift Tip A açık spermatogonyumları oluşturur. Tip A açık spermatogonyumlar bir kaç mitoz bölünme geçirerek Tip B spermatogonyumlara dönüşür. Tip B spermatogonyumlardan oluşan primer spermatositler birinci mayozun profazına girerler.

2.3.3.2. Mayoz fazı

Primer spermatositler spermatosit fazında 1.mayoz bölünme ile sekonder spermatositleri oluştururken oluşan sekonder spermatositler de 2. mayoz bölünme ile spermatid adı verilen haploid hücreleri oluştururlar.

2.3.3.3. Spermiyogenez fazı

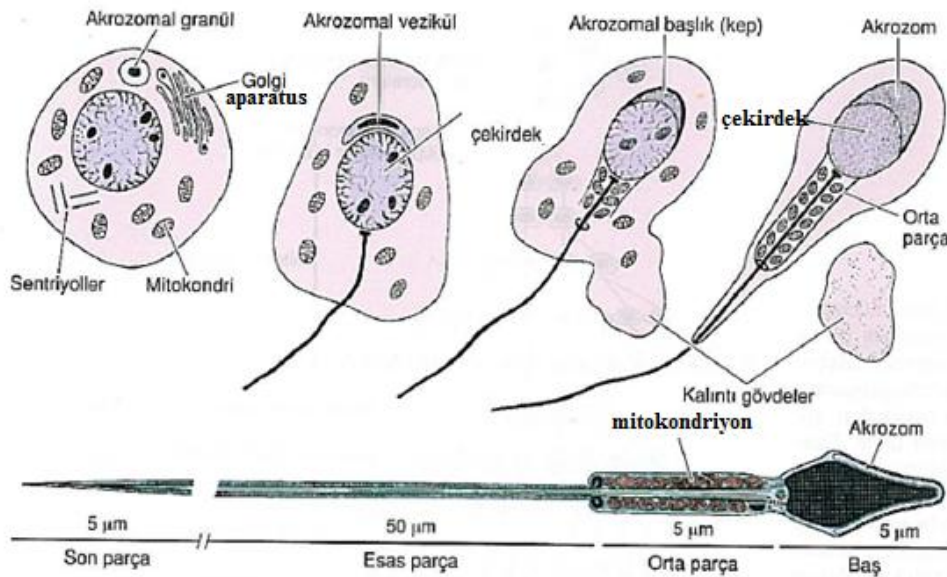
İkinci mayoz bölünme sonucu oluşan her spermatid haploid sayıda DNA içeriğine sahiptir. Haploid spermatidler olgun spermi oluşturmak için yeni bir differansiyasyon sürecine girerler. Spermatid hücrelerinin olgun sperme farklılaşması sırasında bir dizi değişiklikler olur. Bu değişiklikler meydana gelirken spermatidler fiziksel olarak Sertoli hücresinin plazma membranına özelleşmiş bağlantılarla tutunmuşlardır. Spermiyogenezi 4 evrede incelemek mümkündür.

- Golgi evresi: Golgi bölgesindeki küçük veziküller içerisinde küçük granüller yer alır. Bu granüller bir araya gelerek büyük bir granül olan akrozomu meydana getirir. Akrozomal vezikül bir membran ile çevrilidir.
- Şapka evresi: Akrozomal vesikül nüklear membran yüzeyinde büyümeye başlar ve membran yüzeyinin yaklaşık yarısını sarar. Ardından Golgi apparatus yerini bırakarak çekirdeğin diğer kutbuna geçer.
- Akrozom evresi: Vezikül akrozom şeklinde yoğunlaşmaya başlamıştır ve çekirdek üzerinde baş şapkasını oluşturur. Akrozom; asit fosfotaz, hyaluronidaz,

nörominidaz ve tripsin benzeri proteaz olan akrozin gibi hidrolitik enzimleri içerir. Çekirdek yoğunlaşır, hafifçe düzleşir, incelik uzar ve hücre membranının üzerinde sperm başı oluşturur. Mitokondriyonlar stoplazma içerisinde değişikliğe uğrar ve bazal sentriol ve annulus arasındaki bölgeye geçer; burada flagellumun etrafında spiral şeklinde düzenlenerek mitokondriyal kılıfı oluşturur.

- Maturasyon (Olgunlaşma) evresi: Bu fazda flagellanın etrafındaki fazla sitoplazma azalır ve olgun (matür) spermatozoon oluşur. Rezidüel cisimcikler Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir. Spermatidler spermiyasyon adı verilen süreçte seminifer tübüllerin lümenine salıverilirler.

Olgun insan spermi yaklaşık olarak 60 μm uzunluğundadır. Sperm başı yassı, sivri ve 4,5 μm uzunluğunda, 3 μm genişliğinde ve 1 μm kalınlıktadır. Spermin kuyruğu, boyun, orta parça, esas parça ve son parça diye kısımlara ayrılır. Boyun kısmı sentriyoller ve kaba fiberlerin başlangıçlarını içerir. Orta parça yaklaşık olarak 7 μm uzunluğundadır ve mitokondriyonları içerir. Mitokondriyonlar kalın fiberlerin aksonemal kompleksin etrafında sarmal şekilde sarılmışlardır ve kuyruğun hareketi için gerekli enerjiyi sağlarlar. Esas parça yaklaşık 40 μm uzunluğunda, kalın fiberlerin ve aksonemal kompleksin dışındaki fibröz kılıfı içerir. Son parça ise olgun spermde kuyruğun son 5 μm 'lik kısmını oluşturur ve sadece aksonemal kompleksi içermektedir (5).



Şekil 2. 8. Spermiyogenezis (9)

2.4. Testis Fizyolojisi

Erkekte üreme işlevleri üç alt başlıkta özetlenebilir.

1. Sperm oluşumu anlamına gelen spermatogenez
2. Erkek cinsel davranışlarının gerçekleştirilmesi
3. Çeşitli hormonlarla erkek üreme işlevlerinin düzenlenmesi

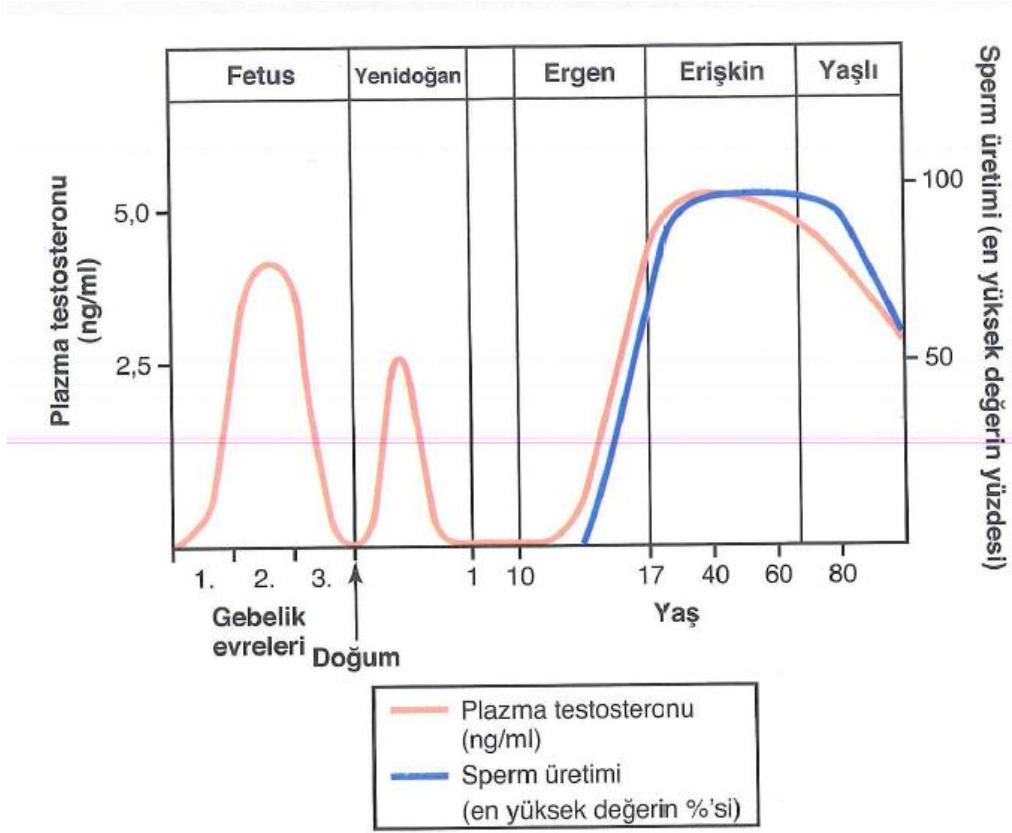
Testislerin seminifer tübüllerinde oluşan spermier yaklaşık olarak 6 metre uzunluğunda olan epididime boşalır. Epididimden vas deferens ile devam eder ve vas deferensin bitiş ucu, prostat bezine girmeden önce vas deferensin ampullası olarak genişler. Prostatın her iki tarafında bulunan iki seminal vezikül prostat girişine açılır. Hem ampulla hemde seminal vezikülün içeriği ejakülatör kanala gecer ve daha sonra internal üretraya boşalır. Testislerden üretilip vücut dışına çıkan spermierin geçtiği son bölüm üretradır. Üretra kanalı boyunca yer alan küçük üretra bezlerinden mukus salgılanır. Aynı zamanda üretranın başlangıç yerine yakın olan çift taraflı bulboüretral bezlerinden de üretraya fazla miktarda mukus salgılanmaktadır.

Embriyonik hayatın yaklaşık 7. haftasında erkek fetus testislerinde seks hormonları (testosteron) üretilmeye başlanır. Kadın ve erkek cinsiyet kromozomu arasındaki en önemli işlevsel farklılıklardan biri erkek (Y) kromozomunda bulunan SRY genidir. Bu gen testis belirleyici faktör olarak bilinen bir proteini kodlar. Bu SRY proteini, genital çıkıntı hücrelerinin testosteron salgılayan hücrelere ve daha sonrada testislere differansiye olmasını sağlayan gen aktivasyon zincirini başlatır. Kadınlarda ise kadın kromozomu bu genital çıkıntı hücrelerini östrojen salgılayan hücrelere dönüşmelerini sağlar. Önceleri genital plaktan daha sonra fetal testislerden salgılanan testosteron hormonu erkek vücut karakteristiklerinin gelişmesinden sorumludur.

Testisler genel olarak gebeliğin son 2-3 ayında yeterli düzeyde testosteron salgılanmasıyla skrotuma iner. Testisler, testosteron, dihidrotestosteron, androstenedion gibi genelde androjen olarak bilinen bir çok erkek cinsiyet hormonlarını salgılar. Testosteron diğer androjenlere göre çok miktarda bulunduğu için en önemli testis hormonu olarak kabul edilir. Testosteron, çoğu hedef dokularda daha aktif olan dehidrotestosterona dönüşür.

Testosteron, interstisyel Leydig hücreleri tarafından üretilir. Bu hücreler seminifer tübüller arasındaki interstisyel alanlarda yer alırlar ve erişkin testis kütlelerinin yaklaşık %20'sini oluştururlar. Çocukluk döneminde testosteron hemen hemen hiç üretilmez.

Yeni doğan erkek çocukta yaşamın ilk birkaç ayında ve ergenlik sonrası erişkin dönemde bol miktarda testosteron üretilir. Testosteron üretimi elli yaşından sonra hızla düşmeye başlar, 80 yaşında ise en üst düzeyin %20' sine kadar gerileyebilir (4).



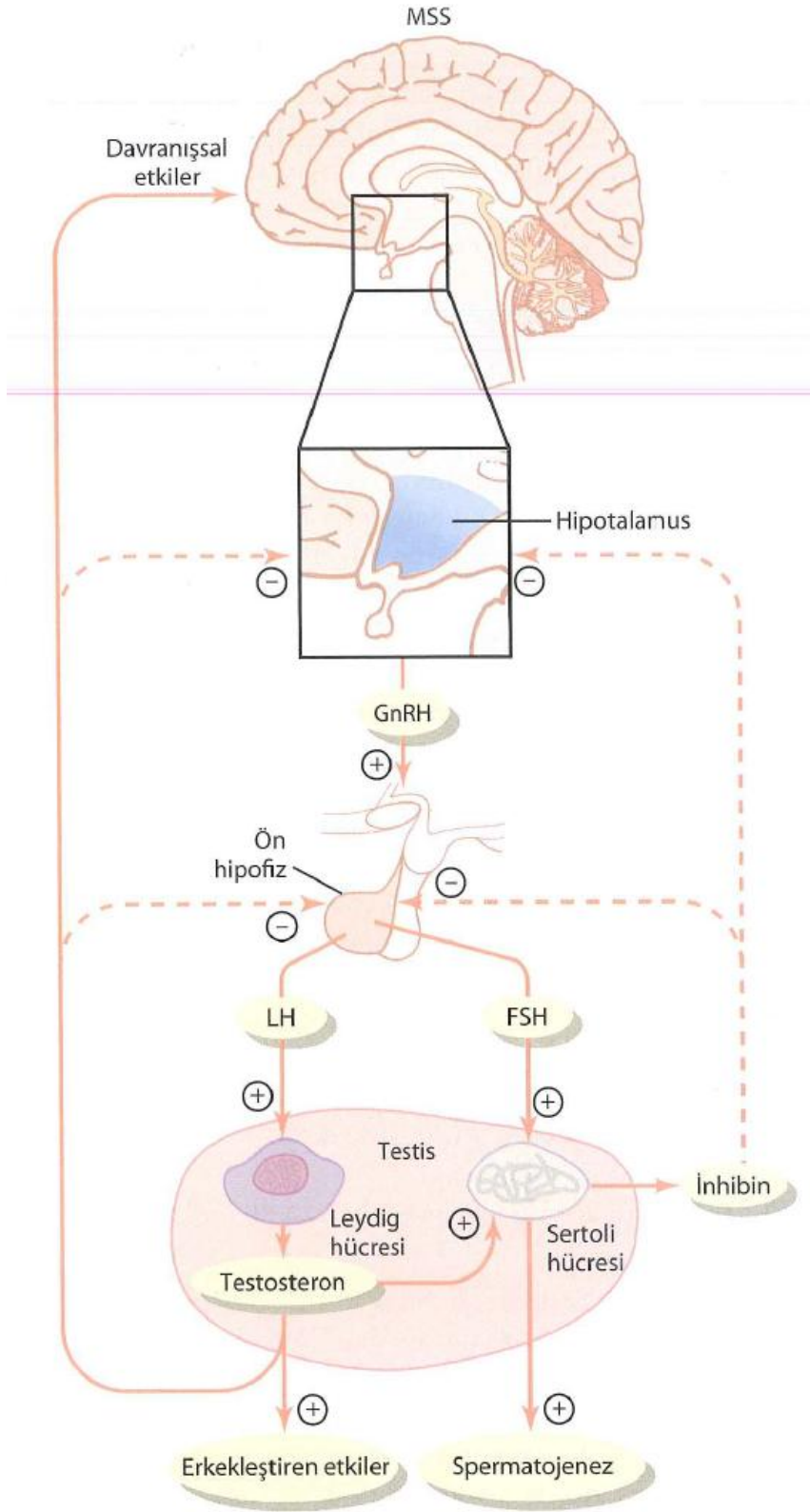
Şekil 2. 9. Farklı yaş dönemlerinde plazma testosteron konsantrasyonu (4)

Testis tümörlerinin geliştiği durumlarda Leydig hücreleri tarafından çok miktarda testosteron salgılanır.

Spermatogenezi uyaran hormonal faktörlerden bazıları şunlardır:

- Testosteron: Testislerde interstisyumda yerleşen Leydig hücrelerinden salgılanır. Testosteron, sperm üretiminin ilk aşaması olan testisin germinal hücrelerinin büyüme ve bölünmeleri için şarttır.
- Luteinizan hormon: Ön hipofiz bezinden salgılanır ve Leydig hücrelerini uyarır.
- Folikül uyarıcı hormon: Ön hipofiz bezinden salgılanarak Sertoli hücrelerini uyarır. Bu uyarı olmadan spermatidlerin spermilere dönüşümü imkansızdır.

Büyüme hormonu testislerin metabolik işlevlerini kontrolü için gereklidir. Büyüme hormonu spermatogonyumların ilk bölünmesini sağlar. Hipofize bağlı bu hormon yokluğu infertiliteye neden olmaktadır (4).



Şekil 2. 10. Erkek üreme sisteminin hipofiz tarafından kontrolü (4)

Testislerde sıcaklık artışı spermatogonumların ve seminifer tübül hücrelerinin çoğunda dejenerasyona yol açarak spermatogenez engelleyebilir. Testislerin skrotumda asılı

durması, vücut sıcaklığına göre 2°C daha düşük sıcaklıkta kalmaları sağlar. Soğukta skrotum kası refleks olarak kasılarak testisleri yukarı doğru çeker. Testislerin vücuda yaklaştırılmasıyla daha fazla soğuması önlenmiş olur. Bu şekilde skrotum testisler için ısı düzenleme görevi yapar (4).

2.5. Mast Hücreleri

2.5.1. Mast Hücrelerinin Tarihçesi

İlk kez 1878 de Paul Ehrlich tarafından çok yiyen şişman anlamında 'mast-zellen' olarak tanımlanmış ve adlandırılmıştır. Öncesinde 1863 te Von Recklinghausen tarafından kurbağa mezenterine ait boyanmamış kesitlerde damarlara yakın yerleşimli granüllü hücreler olarak tanımlanmıştır. Ehrlich mezuniyet tezinde mast hücrelerinin, bağ dokusunu kateden kan damarları, kanallar ve sinirler gibi yapılar etrafında toplanma eğilimi olduğunu ve granüllerinin suda erime özelliğinin bulunduğunu bildirmiştir (10).

Mast hücreleri ile ilgili yoğun çalışmalar yapıldığı halde uzun süre fonksiyonları tam olarak aydınlatılamamıştır. Çeşitli hastalıklarla ilgisi anlaşıldıkça fonksiyonları da aydınlatılmaya başlandı. Son zamanlarda mast hücreleri, in vitro ortamlarda periferik kan, kemik iliği, deri, karaciğer ve göbek kordonundan elde edilen mononükleer hücrelerden üretilebilmiştir. İn vitro olarak serum içermeyen metilselülozlu besi yerlerinde IL-3, IL-6 ve SCF eklenmesiyle 6 hafta içinde üretilip, kültür içinde 6 aya kadar yaşatılabilmesi çalışmalara hız kazandırmıştır (11).

2.5.2. Mast Hücrelerinin Morfolojisi

Bağ dokuların çoğunda yer alan mast hücreleri çok sayıda bazofilik granüller içerirler. Genellikle yuvarlak veya oval şeklinde olup 20-30 µm çapındadırlar. Çekirdekleri merkezi konumludur ve sıklıkla intrasitoplazmik granüller tarafından maskelenmiştir. Salgı granüllerinin çapı 0.3-2.03 µm arasında değişir. Bir hücre sitoplazmasında yaklaşık 50-500 salgı granülü içermektedir (12).

Genellikle gastrointestinal sistem mukozasında, solunum yollarında, deride, mesanede ve merkezi sinir sisteminde, kan damarları, lenf damarları, ve periferik sinirlere yakın yerleşirler (13,14).

Mast hücreleri insanda yaklaşık 30 µm, kemirgenlerde ise 3,5 – 22 µm çapındadır. Granülleri, içerdikleri glikozaminoglikanların asidik radikalleri nedeniyle metakromatik boyanırlar. Dokuda yer aldıkları yerlere göre polihedral, fusiform, oval ve dikdörtgen şeklinde bulunabilir. Çekirdekleri merkezi konumlu, yuvarlak veya oval olup periferik yayılmış heterokromatin özellik gösterir (15).

Mast hücreleri, uygun koşullarda metakromazi gösteren intrastoplazmik granüllere sahip bağ doku hücreleridir. Nadiren iki loblu çekirdeklere rastlanabilir. Matür hücrelerde çekirdekçik ayırt edilemez. En karakteristik özelliği, sitoplazmada çok sayıda bulunan granüllerdir (16). Mast hücreleri granülleri glikozaminoglikanlar içerdiği için toluidin mavisi, metilen mavisi gibi bazik boyalarla boyandıklarında boyanan boyaların renginde değil mor-kırmızı renkte boyanırlar. Bu boyanma durumu metakromazi olarak bilinir.

2.5.3. Mast Hücrelerinin Orjini

Kemik iliğindeki CD34(+) multipotent progenitör hücrelerden köken alır ve kanda prekürsör hücre olarak dolaşırlar (12,17,18).

Mast hücreleri kemik iliğindeki öncül hücrelerinden farklılaşır ve periferik dokularda differansiasyonunu tamamlarlar (19). Mast hücreleri normal bağ dokularda daha çok yer almaktadır (20,21). Derinin dermisi, akciğerler, bağırsakların mukoza ve submukoza tabakaları gibi bölgelere göç ederek buralarda çeşitli faktörlerin etkisiyle farklılaşır olgunlaşırlar, proliferasyonu ve farklılaşmayı IL-3, IL-4 ve SCF gibi faktörler sağlamaktadır. Mast hücrelerin tutunması ve göçünde ekstraselüler matriks bileşenlerinden laminin molekülü rol alır (22).

2.5.4. Mast Hücrelerinin Alt Grupları

Kemirgenlerde mast hücreleri, bağ doku mast hücresi (BDMH) ve mukozal mast hücresi (MMH) olmak üzere iki alt grupta incelenebilir (23,24). Mast hücrelerin yerleşim yerleri, taşıdığı glikozaminoglikanların türü, intragranüler serin proteazların türü, histokimyasal farklılıklar ve hücrelerin morfolojik özellikleri bu alt grupların oluşmasında rol oynamaktadır (19,25).

Mast hücresi heterojenitesinde granüllerin taşıdığı nötral proteazların farklılığına göre, MH_T (Tryptase-pozitif, chymase-negatif) ve MH_{TC} (Tryptase-pozitif, chymase-pozitif)

hücreleri olarak adlandırılırlar (26). Buradaki adlandırma kemirgenlerdeki MMH ve BDMH'lerin analogudur (27).

Mast hücrelerinin taşıdıkları intrasitoplazmik granüller biyokimyasal olarak incelendiğinde, rat mast hücreleri iki farklı kimotripsin benzeri mast hücre proteinaz I (RMHP I) ve rat mast hücre proteinaz II (RMHP II) olarak adlandırılmaktadır (28).

MH_T genelde bronşiyal ve nazal mukozada, MH_{TC} ise deride yerleşmiştir. MH_T alerjik reaksiyonlara ilk cevabı vermektedir ve genelde dış ortama açılan yerlerde daha fazla bulunur. MH_{TC} ise sinir sonlanmaları ve kan damarları etrafında daha çok bulunur ve kimyasal mediyatörler salarak kan akımını kontrol eder (22,29).

Tablo 2. 1 Fare, sıçan ve insanda mast hücre çeşitleri ve granül içeriği (29).

Mast hücresi tipi	Biyojenik amin	Nötral proteaz	Proteoglikan
Fare: Mukozal	H	MMCP-1,-2,	Kondroitin sülfat E
Bağ doku	H+5-HT	MMCP-3,-4,-5,-6,-7 Karboksiptidaz	Heparin
Sıçan: Mukozal	H	RMCP-2, MMCP-5, Karboksiptidaz	Kondroitin sülfat di-B, A, E
Bağ doku	H+5-HT	RMCP-1, Karboksiptidaz	Heparin Kondroitin sülfat E
İnsan:MC _T hücresi	H	Triptaz	Heparin, kondroitin sülfat
MC _{TC} hücresi	H	Triptaz,kimaz, katepsin, G-benzeri proteaz, karboksipeptidaz	Heparin, kondrotin sülfat

H:Histamin 5-HT:Serotonin MMCP:Fare mast hücresi proteazı RMCP: Sıçan mast hücresi proteazı

2.5.5. Mast Hücre Mediyatörleri

Mast hücrelerinde bir kısım mediyatörleri (kondroitin sülfat, histamin, heparin, triptaz ve kimaz gibi) önceden sentezlenip depolanır ve hazır tutulur. Diğer bir kısım mediyatörleri ise (prostaglandin D2, Lökotrien C4 ve bazı sitokinler) hücre uyarıldıktan sonra derhal sentezlenip salgılanırlar. TNF- α ise hem önceden depolanmakta hem de aktive olan hücrelerde sentezlenmektedir (30).

Tablo 2. 2. Temel mast hücre medyatörleri ve biyolojik etkileri (30)

Medyatör	Biyolojik Etki
Histamin	Vazodilatasyon
Heparin, Heparin sülfat	Anjiogenez, koagülasyon
Kondroitin sülfat	Dokunun yeniden şekillenmesi
Triptaz	İnflamasyon, ağrı, doku hasarı, PAR aktivasyonu
Kimaz	İnflamasyon, ağrı, doku hasarı
Karboksipeptidaz	Enzim parçalanması
Katepsinler	Patojenlerin öldürülmesi, dokunun yeniden şekillenmesi
β -glukuronidaz	Ekstraselüler matrisin yeniden şekillenmesi
NO sentaz	NO üretimi
Endotelin	Sepsis
Lökotrienler	İnflamasyon, lökosit göçü, endotel adhezyonu, düz kas kontraksiyonu, vasküler geçirgenlik
Sitokinler	İnflamasyon, lökosit çoğalması ve aktivasyonu, immunregülasyon
Büyüme faktörleri	Farklı Hc tipleri için büyüme faktörleri
Antimikrobiyal ürünler	Patojenlerin öldürülmesi

2.5.5.1. Mast Hücre Sekresyonunu Tetikleyen Faktörler

- Anaflotoksinler (C3a ve C5a)
- Bakteriler
- Kimyasallar
- Sitokinler
- İlaçlar
- Serbest radikaller
- Büyüme faktörleri
- Hormonlar
- IgE ve antijen
- Fiziksel koşullar
- Nörotransmitter maddeler
- Toksinler
- Virüsler
- Radyasyon (31).

2.5.6. Mast Hücrelerin Rol Aldığı Fizyolojik ve Patolojik Durumlar

- Mast hücrelerinin rol aldığı başlıca fizyolojik olaylar: (18)
- Allerjik reaksiyonlar
- Konakçı –parazit etkileşimleri
- Nonspesifik enflamatuvar reaksiyonlar
- Fibrozis
- Anjiyogenezis
- Doku tamiri
- Yara iyileşmesi
- Kallus oluşumu
- Koroner spazmlar
- Gebelik ve doğum

Mast hücrelerinin rol aldığı belli başlı patolojik durumlar: (18,32)

- Yiyecek allerjisi
- Eozinofilik gastroenterit
- Peptik ülser
- Crohn hastalığı
- Ülseratif kolit
- Ürtikerya pigmentosa
- Skleroderma
- Hipertansiyon
- Hipoksi
- İnterstisyel akciğer hastalıkları.

2.5.7. Mast Hücreleri ve Fibrozis İlişkisi

Yapılan in vitro çalışmalarda, hem insan hem de hayvan modellerinde, mast hücre proteazları, kimaz ve tripsinin fibroblast hücrelerinin çoğalmasını indüklediği ve kollajen sentezini artırdığı gösterilmiştir (33,34). Takeshita ve ark. fare modellerinde MH'lerinin artmasının, fibrozis bölgesinde ve sınırdaki infarktlarda plazminojen aktivatör inhibitör-1'den (PAI-1) kaynaklandığını ifade etmişlerdir (35). PAI-1 matriks metalloproteinaz (MMP)'ı inaktive eder ve fibrozisi artırır. İnfertil erkeklerde testis

tübül duvarında fibrotik değişiklikler rapor edilmiştir. Testiküler disfonksiyonun, artan testiküler mast hücreleri ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (36).

2.6. Kriptorşidizm

Kriptorşidizm terimi, 'kryptos' (saklı) ve 'orchis' (testis) kelimelerinden türemiş olup testislerin normal konumuna inmemesi durumudur (37,38).

Testisin skrotal yerleşimi normal spermatogenez ve epididimal fonksiyonlar için gereklidir.

2.6.1. Kriptorşidizmin Etiyolojisi

İnmemiş testisin etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalar genetik faktörlerin ve endokrin bozucuların rol aldığı, ayrıca çevresel faktörlerin de artan insidansa katkıda bulunduğunu kanıtlamıştır (39). Gelişimsel ve kromozomal anomalilere bağlı olarak ortaya çıkan sendromların bir bileşeni olarak inmemiş testisin görülmesi, kriptorşidizm olgularının bir kısmını oluşturur (40).

2.6.2. Kriptorşidizmin İnsidansı

Testisin normal yeri olan skrotuma inişindeki defektin sıklığı, yeni doğan bebeklerde %1.8-4, prematürelerde ise %20-33 arasındadır. İnişin tamamlanmasıyla bu oranlar bir yaşına doğru %0.8-1,8'e kadar düşer. Yetişkinlerde ise %0.5-0.8 kadardır (41,42). Tek yanlı (unilateral) kriptorşidizm tüm olguların yaklaşık olarak %75'ini oluşturmaktadır (43,44).

2.6.3. Kriptorşidizmin Sınıflandırılması

Testisin lokalizasyonuna göre sınıflandırılması şu şekilde yapılmaktadır (45,46):

1. İntraabdominal: Testis skrotum ve inguinal kanal içinde palpe edilemez. Testis internal inguinal kanalın iç tarafında bulunmaktadır.

2. Kanaliküler: Testis internal ve eksternal inguinal kanal halka arasında, inguinal kanal içinde bulunur. Testis skrotuma indirilemez veya indirilip el ile birkaç dakika tutulduktan sonra hemen yukarı doğru çıkar.
3. Ektopik: Testis normal iniş yolu dışında bir lokalizasyon gösterir.
4. Retraktil: Testis eksternal inguinal halka ve skrotum arasında aşağı-yukarı doğru hareket eder.

2.6.4. Kriptorşidizmin Komplikasyonları

Histolojik bozukluklar ve infertilite, testiküler kanser riski, spermatik kordon torsiyonu, inguinal fıtık oluşma olasılığı, testisin travmatik zedelenmesi ve boş skrotumun yarattığı psikolojik sorunlar, kriptorşidizmin temel komplikasyonlarıdır (47,48).

2.6.5. Kriptorşidizm Kanser İlişkisi

Kriptorşidizmin önemli komplikasyonlarından birisi de testiste kanser gelişme riskinin artırmasıdır. Testis kanserli bireylerin yaklaşık olarak %10'unda kriptorşidizm öyküsü bulunmaktadır. Kriptorşidizm öyküsü olan bireylerde testis kanser riskinin 5-10 kat arttığı gösterilmiştir. Kriptorşidizm testis tümör riskini artırırken, erken tanı koyma olanağını da engellemektedir (49,50). Malignite abdominal testislerde inguinal olanlara göre 4 kat daha fazla görülmektedir (48).

2.6.6. Kriptorşidizm Tedavisi

Normal anatomik yerleşimine inemeyen testisler normal olarak gelişememekte, dejenerasyona uğramaktadır. Tedavi ne kadar gecikirse, dejeneratif değişiklikler o kadar önem taşımaktadır. Tedavi için ideal yaş 12-18 ay olarak önerilmektedir (48,51). Tedavide hormonal ve cerrahi yöntemler uygulanmaktadır.

Hormonal tedavi: Testislerin inişi androjen bağımlı bir olaydır. Kriptorşidizmin medikal tedavisinde testislerden lokal testosteron salgılanmasını sağlayan LH etkinliğindeki human koryonik gonodotropin (hCG) ya da LH salgılatıcı faktör (LH-RH) kullanılmaktadır (44,46,52,53).

Kriptorşidizmin diğerk bir tedavi şekli olan cerrahi orşidopeksidir. Orşidopeksinin uygulandığı durumlar aşağıdaki gibi sıralanabilir (54):

- Retansiyon ve aynı zamanda herni varlığında
- Testis epifasiyal olarak yerleşmiş ve inguinal bağı fıkse durumunda
- İyatrojenik retansiyon sözkonusu olduğunda tanı amacıyla
- Ektopik testis varlığının söz konusu olduğu durumlarda

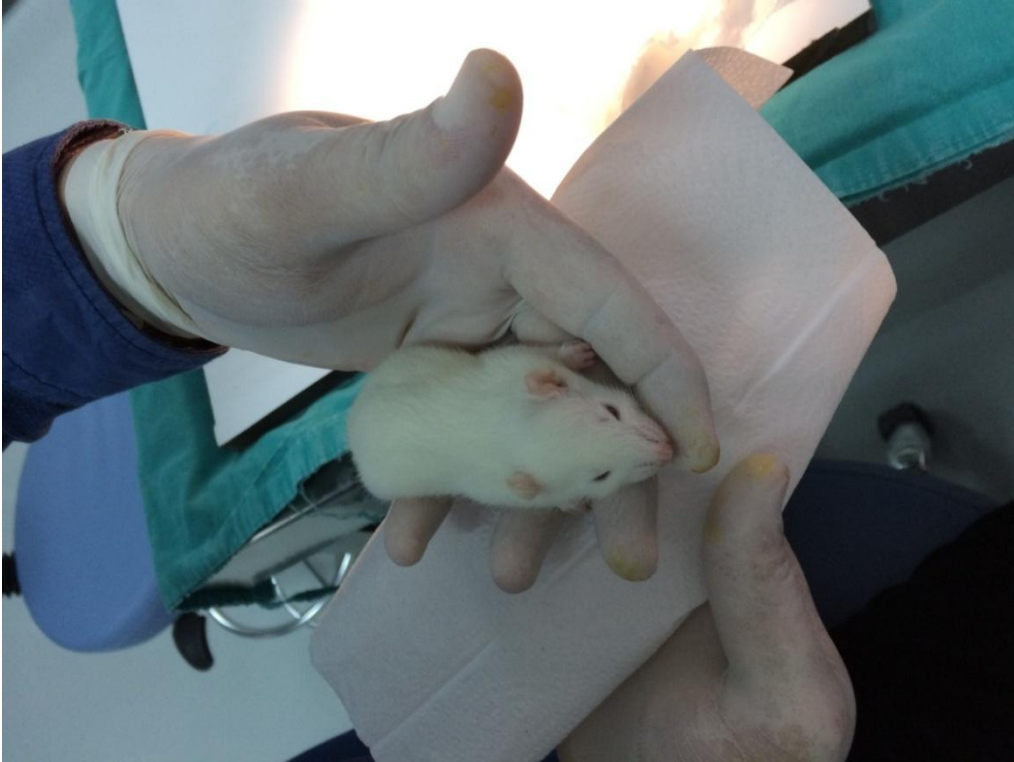
2.6.7. Kriptorşidizm Fibrosiz İlişkisi

İnmemiş testiste bir yaşından sonra fibrozis önemli derecede artar. Fibrozis sahip testiste fonksiyonel parankimanın yerini aldığı için yaşa bağılı olarak germ hücre sayısında azalma olur. Mast hücresi tarafından üretilen triptaz molekülü fibroblast çoğalmasını ve kollajen sentezini önemli bir şekilde artırır. Mast hücreleri normal testiste yer alırlar ancak infertil insan testislerinde mast hücre sayılarında belirgin bir artış meydana gelmektedir. İnterstisyel ve peritübüler alanda önemli derecede artan mast hücreleri yetişkinde defektif spermatogenezis ile ilişkili bulunmuştur (55). Ayrıca artan mast hücrelerin, varikoseli olan kişilerde seminifer tübül fibrozisi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (55).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden (GAÜN-DAM) elde edilen 10 adet 15-17 günlük sağlıklı erkek Sprague Dawley türü sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları oda ışığının 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olarak ve oda sıcaklığının $21\pm1^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlandığı bir ortam sağlandı. Deney aşaması bitene kadar tüm hayvanlar ad libitum beslenmeleri sağlandı. Bütün hayvanlar, çalışma başlangıcında ve çalışmanın bitiminde ağırlıkları ayrı ayrı tartılarak kaydedildi. Çalışmamızda yaptığımız bütün işlemler Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından 05.04.2017 tarihinde 2017/8 sayılı kararı ile onaylandı. Proje Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (BAPYB) tarafından (**BAP No: TF.YLT.18.12**) desteklendi.



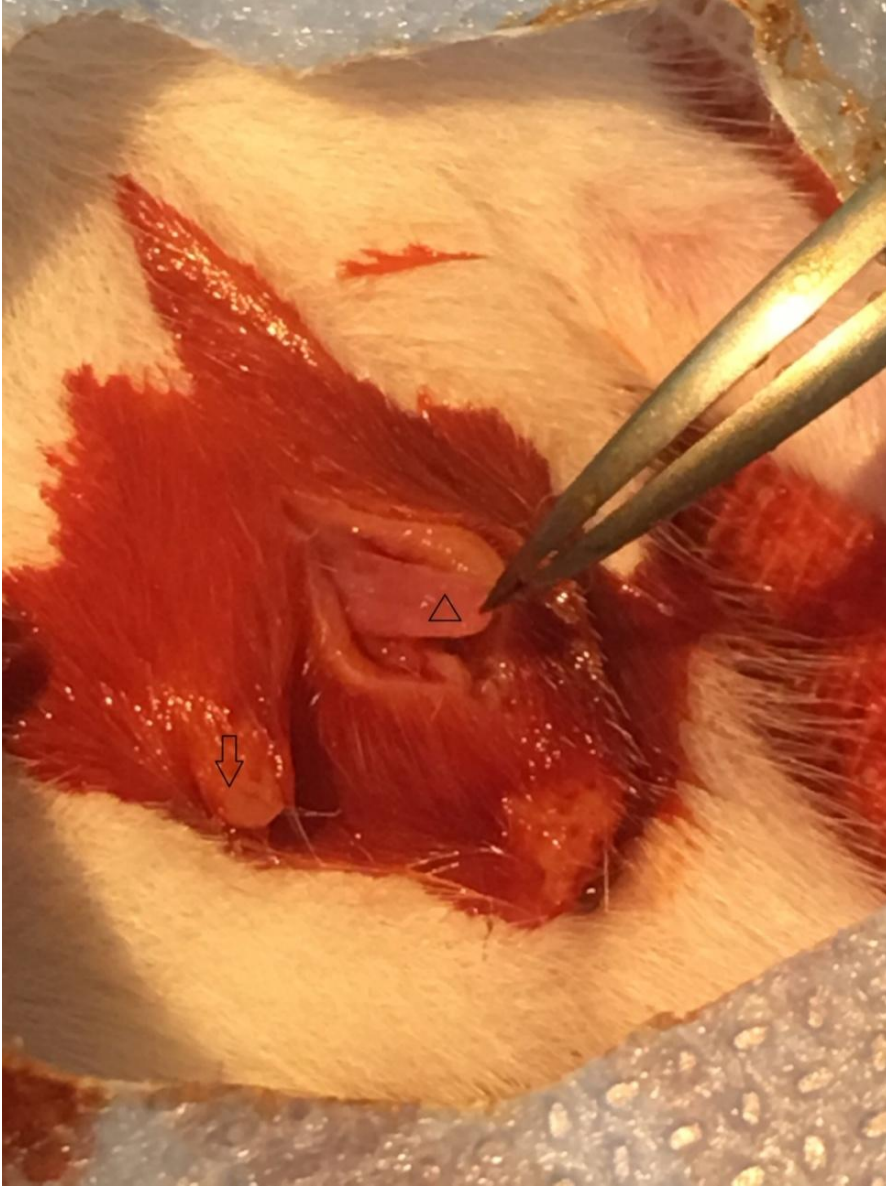
Resim 3. 1. Çalışmamızda kullanılan hayvanlardan birine örnek

3.2. Deney Hayvan Gruplarının Oluşturulması

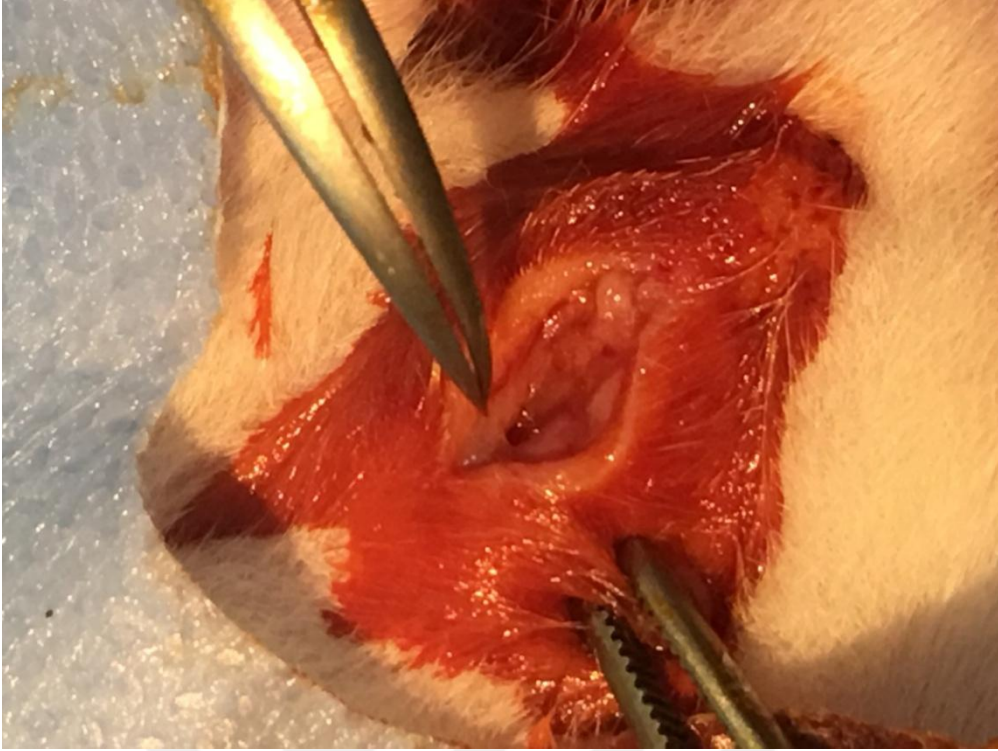
Bu çalışmada, yapılan power güç analizine göre toplamda 10 adet 15-17 günlük 23-27 gr ağırlıktaki erkek Sprague Dawley sıçanlar kullanıldı .Bu çalışmada sıçanlar, biri kontrol diğeri kriptorşid olmak üzere her birinde 5 adet sıçan bulunduğu 2 eşit gruba bölündü. Kontrol grubuna bir işlem yapılmadan 2 hafta boyunca beslenmeleri sağlandı. Kriptorşid grubuna ise tek taraflı kriptorşid modeli oluşturulup 2 hafta boyunca beslenmeleri sağlandı.

3.3. Cerrahi Yöntemin Gerçekleştirilmesi

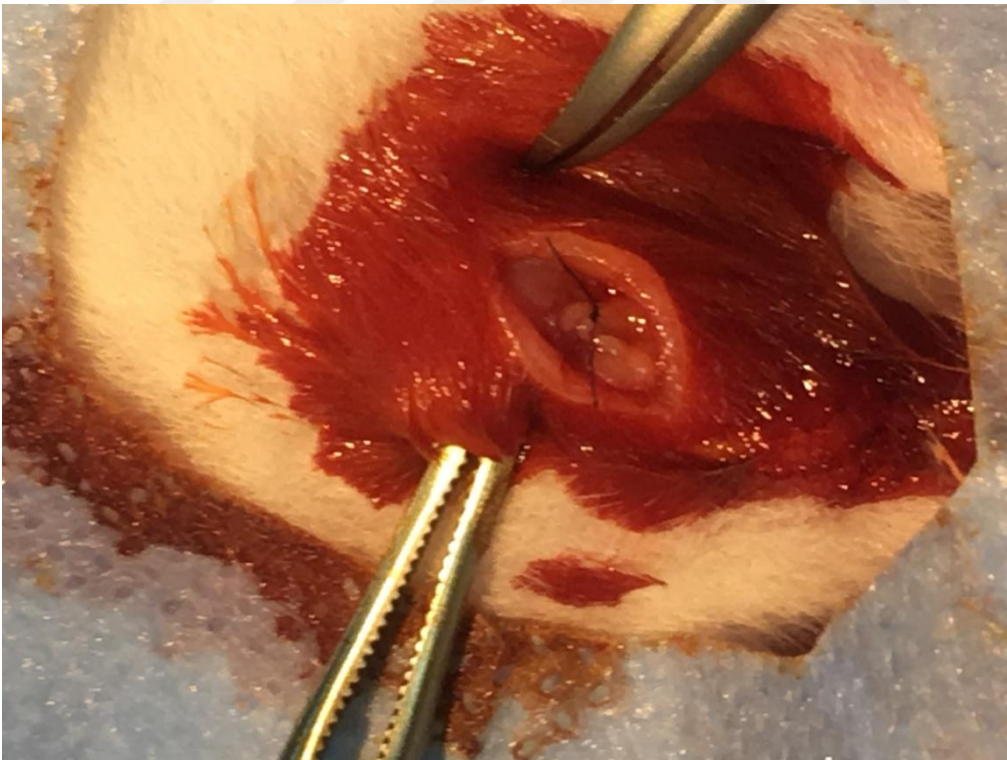
Unilateral kriptorşidizm modeli uygulanacak hayvanlar ilk önce, intraperitoneal olarak uygulanan xylazine hidroklorür (Rompun, 100 mg/ml) ve ketamin hidroklorür (Ketalar, 50 mg/ml) karışımı yapılarak hayvanlar genel anestezi altına alındı. Anestezik madde 10 cc steril tp içinde 5.75 cc distile su, 3.75 cc Ketalar (50 mg/ml) ve 0.5 cc Rompun (100 mg/ml) iyi bir şekilde karıştırıldı ve bu karışımdan hayvan başına 0.2 cc/100 gr IP yol ile kullanıldı. Hayvanların anestezik maddenin etkisine girip girmediğini anlamak için arka ayaklarını penset ile sıkıştırarak verdikleri tepkiye bakıldı. Hayvanlar anestezinin etkisine girdikten sonra inguino-skrotal bölgesi povidon iyotla iyi bir şekilde temizlendi. İnguinal bölgede yapılan yüzeysel kesi ile deri açıldı ve künt diseksiyonla sol gubernakulumla ulaşıldı (**Resim 3.2.**). Bitişik dokulardan ayrılan sol gubernakulum kendi içine ters-yüz edilerek eksternal inguinal halkadan abdominal boşluk içine geri itildi (**Resim 3.3.**) ve ardından sol gubernakulum eksternal inguinal halka ile birlikte, kendiliğinden erimeyen 7/0 ipek iplikle dikiş atılarak sabitlendi (**Resim 3. 4.**). Daha sonra deri 5/0 zamanla eriyebilen iplikle dikilerek kapatıldı (**Resim 3.5.**). Her bir müdahale yaklaşık 20-25 dakika kadar sürdü. Müdahale sonrasında yavru hayvanlar süt emme döneminde oldukları için annelerinin yanına geri bırakıldı.



Resim 3. 2. Deri kesildikten sonra ortaya çıkan gubernakulum.(Δ):Gubernakulum (ok): Penis



Resim 3. 3. Sol gubernakulum kendi içine ters-yüz edilerek dış inguinal halkadan karın boşluğu içine tekrar geri itilmesi



Resim 3. 4. Sol gubernakulum dış inguinal halka ile birlikte, erimeyen 7/0 ipek iplikle dikildi.



Resim 3. 5. Deri 5/0 eriyebilen iplikle dikildi

3.4. Dokuların Alınması

Hayvanlar, histopatolojik incelemeler ve değerlendirmeler için genel aneztesi altına alındıktan sonra doku fiksasyonu için perfüzyon fiksasyonu uygulanıp testis dokuları alındı. Bu hayvanlar diseksiyon masasında sırtüstü yatırılarak göğüs kafesi açılıp sabitlendi. Perfüzyon setinin iğnesi sol ventriküle yerleştirilerek ucu pens yardımıyla sabitlendi ve sağ atrium kesildikten sonra perfüzyon pompası çalıştırıldı. Damarlardaki kanın uzaklaştırılması

için laktatlı ringer solüsyonu ile perfüzyona başlandı. Kanın uzaklaştırılmasından sonra Carnoy solüsyonu ile perfüzyon fiksasyonu işlemine başlandı. Perfüzyon fiksasyonu tamamlandıktan sonra deney hayvanlarının testisleri epididimleri ile birlikte alındı. Epididimlerinden ayrılan deney hayvanlarının testis ağırlıkları ölçüldü. Ardından bütün testis dokuları Carnoy çözeltisi ile fikse edildi.

3.6. Deney Hayvanlarının Testis Ağırlıklarının Ölçümü

Deneyin bitiminde çevre dokularından izole edilen testislerin hepsi RADWAG AS 220.R2 adlı hassas terazi ile tartıldı. Testis ağırlıkları her sıçan için ayrı ayrı sol ve sağı olmak üzere tartılarak kayıt altına alındı.

3.7. Deney Hayvanlarının Testis Ağırlık İndeksinin Hesaplanması

Deneyin bitiminde ölçülen vücut ağırlıkları ile aynı hayvanlara her iki testis ağırlıklarının toplamı aşğıdaki formüle göre hesaplanarak her bir hayvan için Testis Ağırlık indeksi (TAİ) değerleri bulundu.

TAİ: [(sağı testis ağırlık + sol testis ağırlık toplamı) / vücut ağırlığı] × 100

3.8. Işık Mikroskopik İncelemeler

3.8.1. Bouin fiksatifin hazırlanması

Testis dokuları Carnoy çözeltisi ile tespit edildiğı için Masson's Trikrom boyama için kesitler Bouin çözeltisinde 56 °C'de 1 saat beklemeye alındı.

Bouin fiksatifinin hazırlanma şekli:

- Doymuş pikrik asit: 75 cc
- Formaldehit (%40'lık): 25 cc
- Glasiyal asetik asit: 5 cc

Molekül ağırlığı (12,2 gr) olan pikrik asitten 1000 cc saf su içerisinde çözüldü. İyice çözdürüldükten sonra yeterli miktarda pikrik asit alındı. Hazırlanan çözelti kullanılmadan önce süzüldü. Bouin çözeltisini hazırlamak için önce doymuş pikrik asit çözeltisi ile formaldehit solüsyonu karıştırıldı, sonrasında ise içerisine yavaşça glasiyal asetik asit eklenerek çözelti karıştırıldı.

3.8.2. Işık mikroskopik görüntü için dokuların hazırlanması

Işık mikroskopik görüntülerin alınabilmesi ve çalışma yapılabilecek zamana kadar hayvanlardan alınan testis dokuları Carnoy çözeltisi içinde fikse olması için bekletildi. İyi fikse olup sertleşen sıçanların testis dokuları önce enine ortadan iki eşit parçaya ayrıldı ve ardından bu doku parçaları uygun boyutlara getirilerek kasetlere alındı ve kodlandı. Doku takibi için Leica TP 1010 doku takip cihazı kullanıldı (**Tablo 3.1**). Takip işleminden sonra dokular parafin bloklara alındı.

Tablo 3. 1. Doku Takibi Cihazının Protokolü

İŞLEM VE KİMYASAL	SÜRESİ
Akar su	1 Gün
%60 'lık Alkol	60 dk
%70'lık Alkol	60 dk
%80'lık Alkol	60 dk
%96'lık Alkol	60 dk
%100'lük Alkol	60 dk
Ksilen1	60 dk
Ksilen2	60 dk
Parafin1	60 dk
Parafin2	60 dk
Gömme işlemi	

3.8.3. Dokulardan kesitlerin alınması ve boyama işlemi

Leica RM 2245 marka adlı mikrotomu ile parafine gömülmüş testis doku bloklarından 4-5µm kalınlıkta kesitler alındı. Kesitler 1 gece etüvde kaldıktan sonra ksilene alındı ve Hematoksilen - Eozin / H-E (**Tablo 3.2.**), Toluidin Mavisi (**Tablo 3.5.**) ve Masson's Trikrom/TRI (**Tablo 3.3.**) ile boyandı

Tablo 3. 2. Hematoksilen-Eozin Boyama Aşamaları

KİMYASAL İŞLEMLER	SÜRE
Ksilen	60 dk
Alkol serileri (%100,%90,%80,%70)	5'er dk
Distile suyu	3 dk
Hematoksilen	20 dk
Akar çeşme suyu	15 dk
Asit-Alkol	2-3 kez batır çıkar
Çeşme suyu	çalkala
Akar çeşme suyu	15 dk
Distile suyu	2 dk
Eozin	10 saniye
Distile suyu	Çalkala
Artan alkol serileri (%90,%96,%100)	2'şer dk
Ksilen	60 dk
Kapatma	

Tablo 3. 3. Masson's Trikróm Boya Çözeltisi

A Çözeltisi	Asit Fuksin: 0.5 gr Xylidine ponceau: 0.5gr Distile su: 99 cc Glasiyal Asetik Asit: 1 cc
B Çözeltisi	Fosfomolibdik Asit: 1gr Distile Su: 100cc
C Çözeltisi	Light Green SF Yellowish: 400mg Distile Su: 100 cc Glasiyal Asetik Asit: 0.2cc
D1-D2 Çözeltisi	Asetik Asit: 1 cc Distile Su: 99cc

Tablo 3. 4. Masson's Trikrom (TRI) boyama takip işlemleri

KİMYASAL İŞLEMLER	SÜRESİ
Etüv	12 saat
Ksilen	60 dk
Azalan alkol serileri(%100,%90,%70,%50)	3 'er dk
Distile su	çalkala
Boin Çözeltisi 56 °C'de	60 dk
Musluk suyu	Sarı renk bitene kadar
Distile suyu	çalkala
Demirli Hematoksilen	60 dk
Akar çeşme suyu	20 dk
%1 hidroklorik asit+ %70 etanol	Batırıp çıkar
Akar çeşme suyu	20 dk
Distile suyu	Batırıp çıkar
A Çözeltisi	5 dk
Distile suyu	Batırıp çıkar
B Çözeltisi	10 dk
D1 Çözeltisi	Birkaç defa çalkala
C Çözeltisi	10 dk
D2 Çözeltisi	1 dakika çalkala
Distile suyu	Birkaç defa çalkala
Alkol serileri (%50, %70)	2 'şer dk
Alkol serileri(%90,%96)	1'er dk
Ksilen	60 dk
Kapatma işlemi	

Tablo 3. 5. Toluidine Mavisi Boyama Protokolü

KİMYASAL İŞLEMLER	SÜRESİ
Etüv	1 Gece
Ksilen 1	2 dk
Ksilen 2	2 dk
Alkol serileri(%96,80,70,60,50)	5 dk
Distile su	çalkala
Boya	3 dk
Çesme Suyu	çalkala
Alkol (% 96)	30 Saniye
Ksilen 1	15 dk
Ksilen2	30 dk
Kapatma	

3.8.4. İmmünohistokimyasal İncelemeler

Deney hayvanlarından elde edilen testis dokularında mast hücrelerini görüntülemek ve sayısal olarak değerlendirmek için bloklanmış dokulardan Leica RM 2245 marka mikrotom ile 4-5 µm kalınlığa sahip kesitler alındıktan sonra pozitif şarjlı lamlara yerleştirildi. Bu lamalar bir gece 60 °C etüve bırakıldı. Lamalar 2x10 dakika ksilende kaldıktan sonra azalan alkol serilerine (%100, %80, %70) tabi tutuldu. Bundan sonra antijen kurtarma işlemi için Anti-Mast cell tryptase Antikoru uygulanacak olan lamalar %10 sitratlı tampon solüsyonu ile 700 wattta 7 dakika ve 400 wattta 7 dakika olmak üzere 2 kez mikro dalga fırın ile kaynatıldı. Bütün lamalar aynı solüsyon içinde 15 dakika soğumak için bekletildi ve ardından 3x5 dk PBS tamponu ile yıkandı. Yıkama işlemi bittikten sonra dokular Pap Pen ile çizildi. Daha sonra %3 H₂O₂ (Hidrojen Peroksit)'te 10 dakika beklemeye alındı. Sonrasında tekrar 3x5 dk PBS tamponu ile yıkandı ve 60 dakika UV (Ultra Vision) blokta bırakıldı ve 1/7500 sulandırılmış primer antikorla bir gece +4 °C de bekletildi. Sonrasında tekrar 3x5 dakika PBS tamponu ile yıkandı ve 30 dakika boyunca biyotinlenmiş sekonder antikor uygulandı. Bu işlemin ardından yine 3x5 dakika PBS tampon solüsyonu ile yıkandıktan sonra 30 dakika 100 µL streptavidine uygulandı. PBS ile 3x5 dakika yıkama sonrası lamlardaki dokular 15 sn 100 µL DAB kromojen (kahverengi renk ortaya çıkana kadar) ile boyandı. Bu işlemin ardından lamalar musluk suyu ile yıkandı ve 3 dakika Mayers Hematoksilen ile boyama işlemi yapıldı. Boyama işleminden sonra lamalar distile suyu ile yıkandı ve artan alkol serilerine 2'şer dakika bırakıldı (%70, %80, %90) ve ksilende yarım saat bekletildikten sonra kapama işlemleri yapıldı.

Anti- Mast Cell Tryptase Antikoru için pozitif kontrol olarak Tonsil dokusu, negatif kontrol için ise PBS kullanıldı.

İmmünohistokimya boyamalarının değerlendirilmesi aşamasında, kontrol ve deney gruplarının her biri için 20 farklı alanda triptaz belirtecine göre 400X büyütmede mast hücre sayımı yapıldı. Elde edilen sonuçlar istatistiksel analiz ile ortalama mast hücre sayısı±standart sapma olarak verildi.

3.8.5. Tübül Çapı Ölçümü

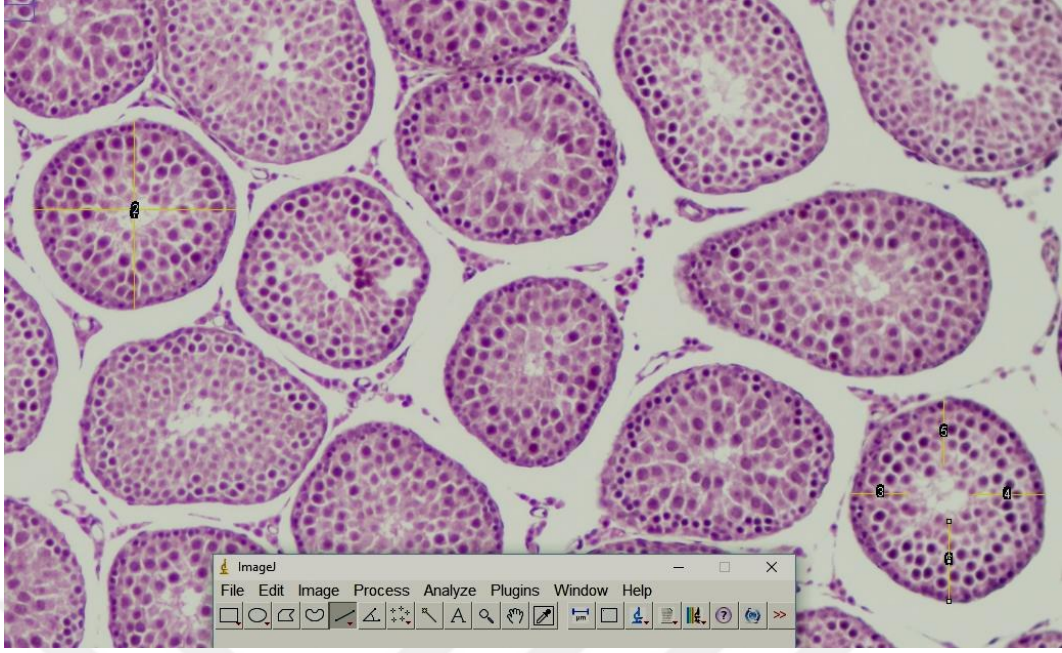
Seminifer tübül çapları ImageJ 1.51K adlı Analiz Programı ve Leica DM 750 ışık mikroskobu ile incelenerek ölçümler yapıldı. Her bir grup için 10× büyütme ve her bir hayvan başına 10 adet seminifer tübülün çapı, tübülün başına 2 ölçüm yapılarak ve aynı seminifer tübülün 4 farklı yerinden çaplar ölçülüp ortalamaları alınarak morfometrik ölçümler ortaya çıkarıldı (**Resim 3.6.**).

3.8.6. Fibrozisin Değerlendirilmesi

Kontrol ve kriptorşid gruplarına ait sıçanların, Masson trikrom boyaması yapılan testis dokularının fibrozis değerlendirilmesi için her bir testis dokusu için 20 alan taranarak 40'luk büyütme ile 1: < %5 (fibrozis yüzde 5'in altında seyretti), 2: %6-%25, 3: %26-%50 4: > %50 şeklinde H skarlama yöntemi kullanılarak fibrozis değerlendirildi.

3.8.7. Peritübüler ve İnterstisyel Alan Fibrozis Değerlendirilmesi

Deney hayvanlarından elde edilen testis dokularından fibrozisi değerlendirmek için Masson's trikrom boyaması kullanıldı. Kontrol ve kriptorşid gruplarına ait sıçanların, testis dokularının fibrozis değerlendirilmesi için her bir testis dokusu için 40'luk büyütme ile 20 alan taranarak 1: < %5 (fibrozis yüzde 5'in altında seyretti), 2: %6-%25, 3: %26-%50 4: > %50 şeklinde H skarlama yöntemi kullanılarak fibrozis değerlendirildi. Her testis dokusu için seçilen 20 alanda verilen yüzdelik dilimlerin ortalaması alınarak interstisyel alan ve peritübüler alanda fibrozis değerlendirildi.



Resim 3. 6. ImageJ 1.51K Analiz Programı

3.9. Geçirimli Elektron Mikroskop Protokolü

Perfüzyondan sonra elektron mikroskobu için alınan testis dokuları jilet yardımıyla parçalara ayrılarak 1 mm³'den küçük hale getirilmiştir.

Aşamalar:

1. Dokular perfüzyondan hemen sonra primer fiksatif olarak +4°C'de %5'lik gluteraldehit içine alınıp fikse edildi.
2. 2 değişim Millonig fosfat tampon solüsyonu ile +4°C'de 10'er dakika yıkandı.
3. Sekonder fiksatif olarak %1 osmium tetroksitte +4°C'de 10 dakika bekletilerek postfiksasyona tabi tutuldu.
4. 2 değişim Millonig fosfat tampon solüsyonu ile +4°C'de 10'er dakika yıkandı.
5. Dehidratasyon için artan sırada etil alkol serilerinde bekletildi.
 - a) % 50'lik etil alkolde +4°C'de 15 dakika
 - b) % 70'lik etil alkolde +4°C'de 15 dakika
 - c) % 86'lık etil alkolde +4°C'de 15 dakika
 - d) % 96'lık etil alkolde +4°C'de 15 dakika
 - e) % 100'lük etil alkolde +4°C'de 15 dakika
 - f) % 100'lük etil alkolde +4°C'de 15 dakika
6. %100'lük etil alkol oda ısısında 15 dakika bekletildi.
7. 2 değişim propilen oksitte 15'er dakika bekletilerek şeffaflaştırıldı.
8. 2 değişim propilen oksit + rezin karışımında 30'er dakika bırakıldı.

9. Rezin solüsyonu 1 gece rotorda döndürüldü.

10. Dokular rezinden arındırılarak plastik polietilen kapsüllere konuldu. Kapsüller taze hazırlanan rezin ile dolduruldu ve 60°C’de 48 saat bekletildi.

11. Rezin polimerize olarak sertleştikten sonra soğumaya bırakıldı.

Dokular tekrar Millionig fosfat tamponunda yıkanarak, etanol serilerinden geçirildi ve dehidrate edildi. Dehidrate olan testis dokuları propilen oksit ile şeffaflaştırılmak üzere propilen oksit-resin karışımına alındı. Daha sonra saf rezin içine alınarak 1 gece infüze edildi. İnfüzyondan sonra blok kapsüllerinde taze saf rezin içine gömülerek etüvde polimerize edildi ve böylece elektron mikroskop için bloklar hazırlanmış oldu.

Hazırlanan bloklardan ultramikrotom yardımıyla yaklaşık 50 nm kalınlığında ultra ince kesitler elde edilip gridler üzerine toplandı. Kesitler Jeol JEM 1400 geçirimli elektron mikroskobu ile incelendi.

3.10. İstatistiksel Analizler

Çalışmadan elde ettiğimiz veriler IBM SPSS 22.0 istatistik paket programı yardımı ile analiz edildi. Sayısal verilerin normal dağılıp dağılmadığını anlamak için Shapiro Wilk testi kullanıldı. Normal dağılıma uyan değişkenlerin gruplar arasında bir fark olup olmadığını görmek için ANOVA ve LSD testleri kullanıldı. Gruplar arasında anlamlı bir farklılık çıkan parametrelerde hangi gruplar arasında farklılık olduğunu görmek için ise post-hoc testi uygulandı. Sonuçlar %95’lik güven aralığında ve $P < 0,05$ ise istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Morfometrik Bulgular

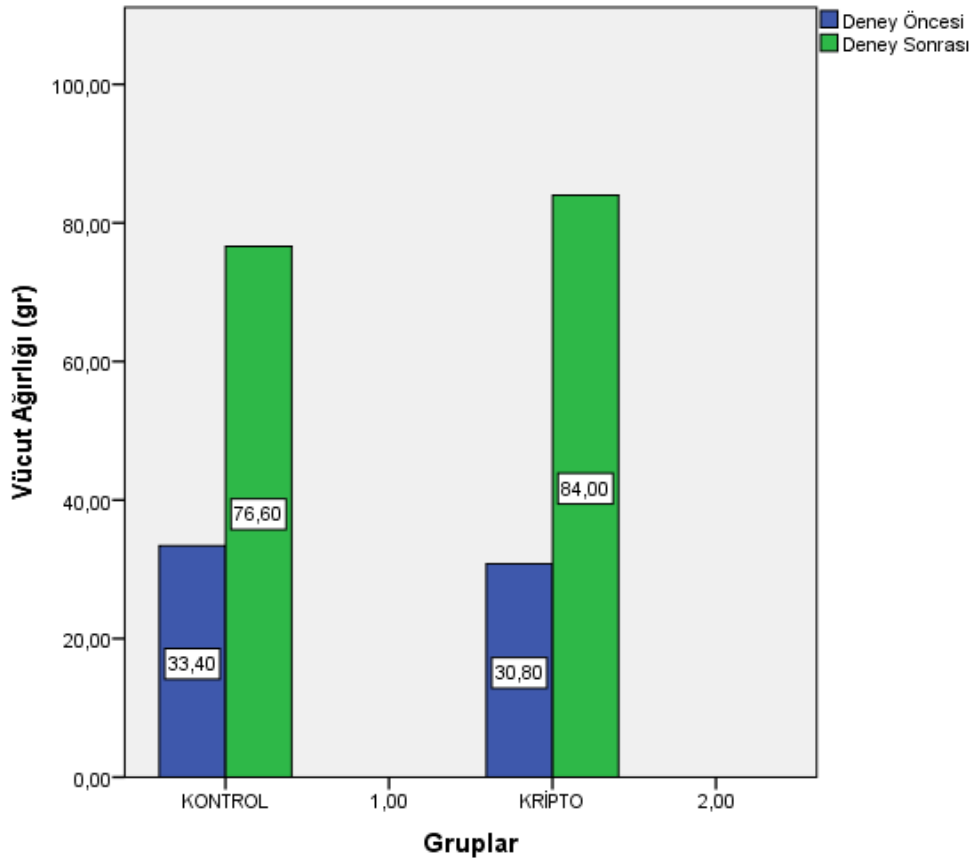
4.1.1. Vücut ağırlığı

Çalışmanın başlangıcında ve sonunda kontrol grubu ve kriptorşid deney grubundan oluşan hayvanların vücut ağırlıkları ayrı ayrı tartıldı. Bu çalışmanın sonucuna göre; deney öncesi gruplar arası sıçanların vücut ağırlıklarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tesbit edilmedi.

Kullanılan 15-17 günlük yavru sıçanlar deneyin devam ettiği 14 gün boyunca büyümelerini sürdürdüklerinden dolayı bütün sıçanların vücut ağırlıkları da artmıştır. Bu nedenle vücut ağırlıkları sadece gruplar arasında karşılaştırıldı ve bu sonuçlara göre gruplar arası vücut ağırlıklarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tesbit edilmedi($p=0,609$ - $p=0,526$).

Tablo 4.1. Deney gruplarına ait sıçanların vücut ağırlıkları (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri

Deney Öncesi Vücut Ağırlık		P değeri
Gruplar	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol grubu	33,4 $\pm$ 6,19	0,609
Kriptorşid grubu	30,8 $\pm$ 9,01	
Deney Sonrası Vücut Ağırlık		P değeri
Gruplar	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol grubu	76,6 $\pm$ 17,73	0,529
Kriptorşid grubu	84,0 $\pm$ 17,54	



Şekik 4. 1. Deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik

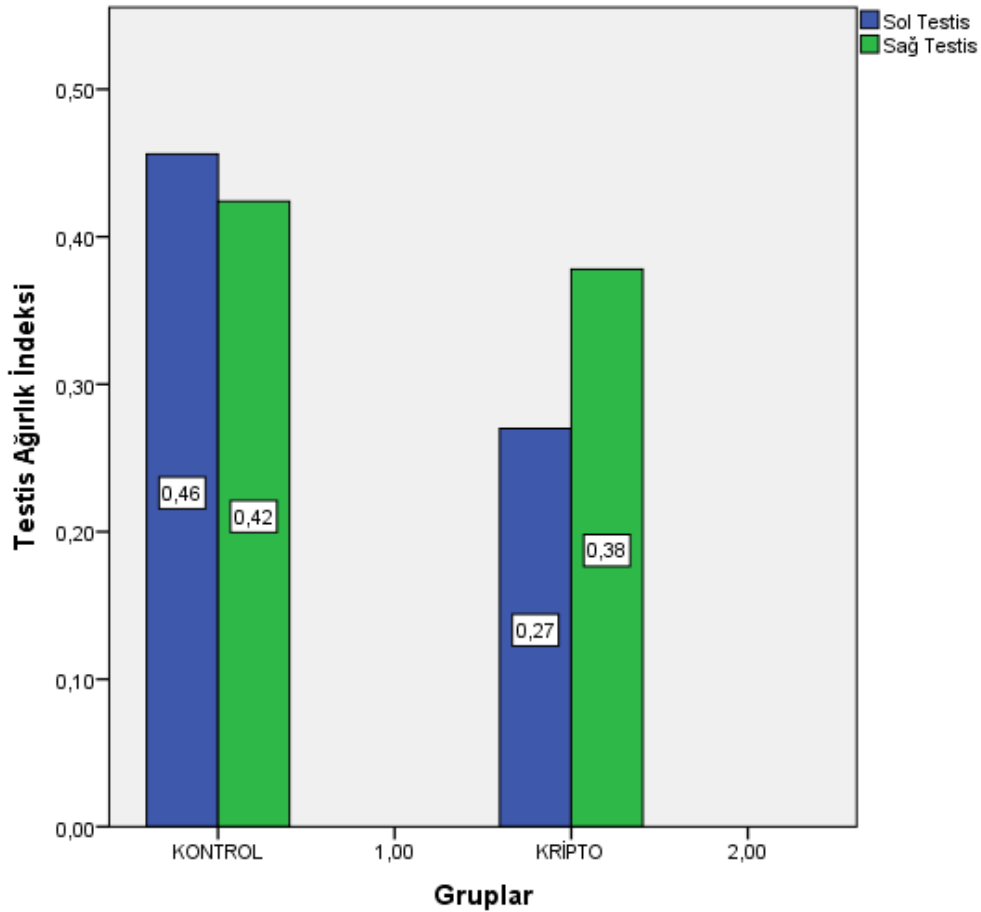
4.1.2. Testis Ağırlığı

Çalışmanın bitiminde kontrol grubu ve kriporşid deney grubundan oluşan hayvanların sol ve sağ testis ağırlıkları tartıldı. Elde edilen verilere göre gruplar arası sol testis ağırlıklarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tesbit edildi ($P=0,003$). Kriporşid grubunun sol testis ağırlığında kontrol grubunun sol testis ağırlığına göre azalma oldu. Grup içi karşılaştırmada ise kriporşid grubunda sol testis ağırlığı sağ testis ağırlığına göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha hafifti ($P=0,039$).

Tablo 4. 2. Deney gruplarına ait hayvanların sağ ve sol testis ağırlık indeksinin (Ortalama $\pm$ -SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri

Gruplar	Ortalama $\pm$ Standart Sapma
Kontrol Sol	0,46 $\pm$ 0,08
Kriptorşid Sol	0,27 $\pm$ 0,03
Kontrol Sağ	0,42 $\pm$ 0,07
Kriptorşid Sağ	0,38 $\pm$ 0,05

Gruplar Arası Karşılaştırma		P Değeri
Kontrol Sol Testis	Kriptorşid Sol Testis	0,003 *
Kontrol Sağ Testis	Kriptorşid Sağ Testis	0,239



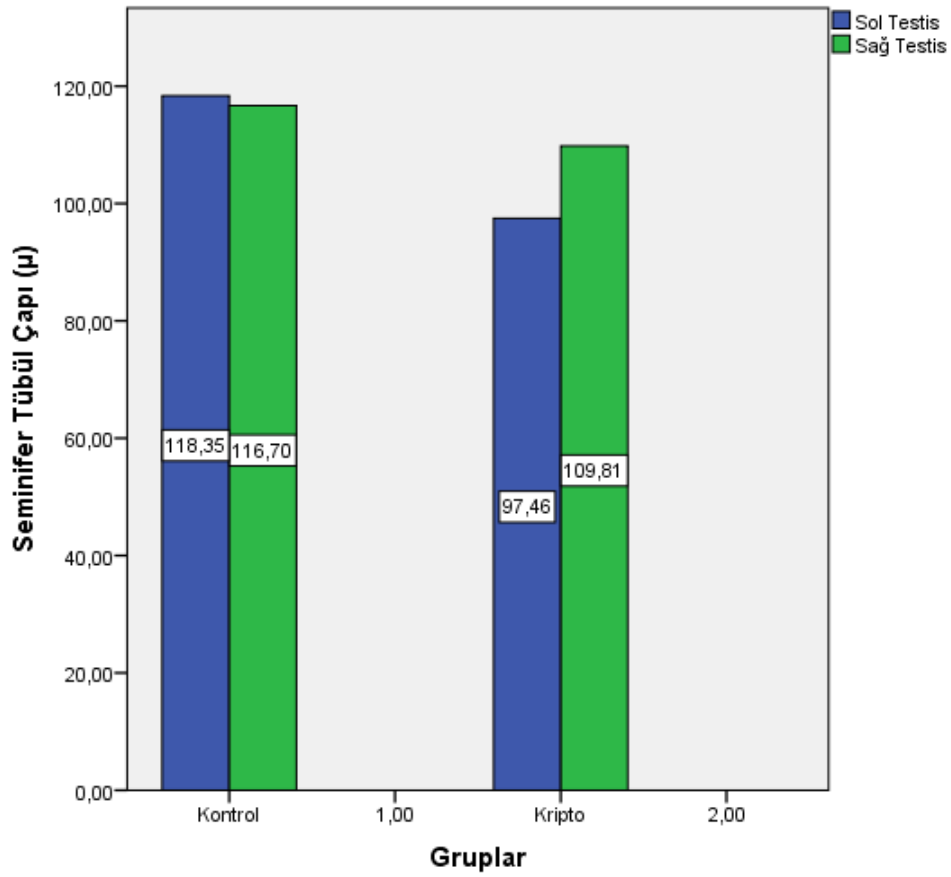
Şekil 4. 2. Testis ağırlık indeksinin deney sonrası gruplar arası karşılaştırmayı gösteren grafik

4.1.3. Seminifer tübül  apı

Deneyin sonunda kontrol ve kriptorşid deney grubundan oluşan hayvanların sol ve sağ testis seminifer tübül çapları  l   ld . Bu  l   mlerin sonuçlarına göre kriptorşid grubunda sol testis ve sağ testis seminifer tübül çaplarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı $P=(0,001)$. Gruplar arası sağ ve sol testis seminifer tübül çaplarında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu $P=(0,001)$. Kriptorşid grubunda sol ve sağ testis seminifer tübül çapları kontrol grubunun sağ ve sol testis seminifer tübül çaplarına göre azalmıştı.

Tablo 4. 3 Deney gruplarına ait hayvanların sağ ve sol testis seminifer tübül çaplarının ortalaması ve standart sapması

Gruplar	Ortalama $\pm$ Standart Sapma
Kontrol Sol	118,35 $\pm$ 8,64
Kontrol Sağ	116,07 $\pm$ 7,83
Kriptorşid Sol	97,46 $\pm$ 18,8
Kriptorşid Sağ	109,81 $\pm$ 7,06



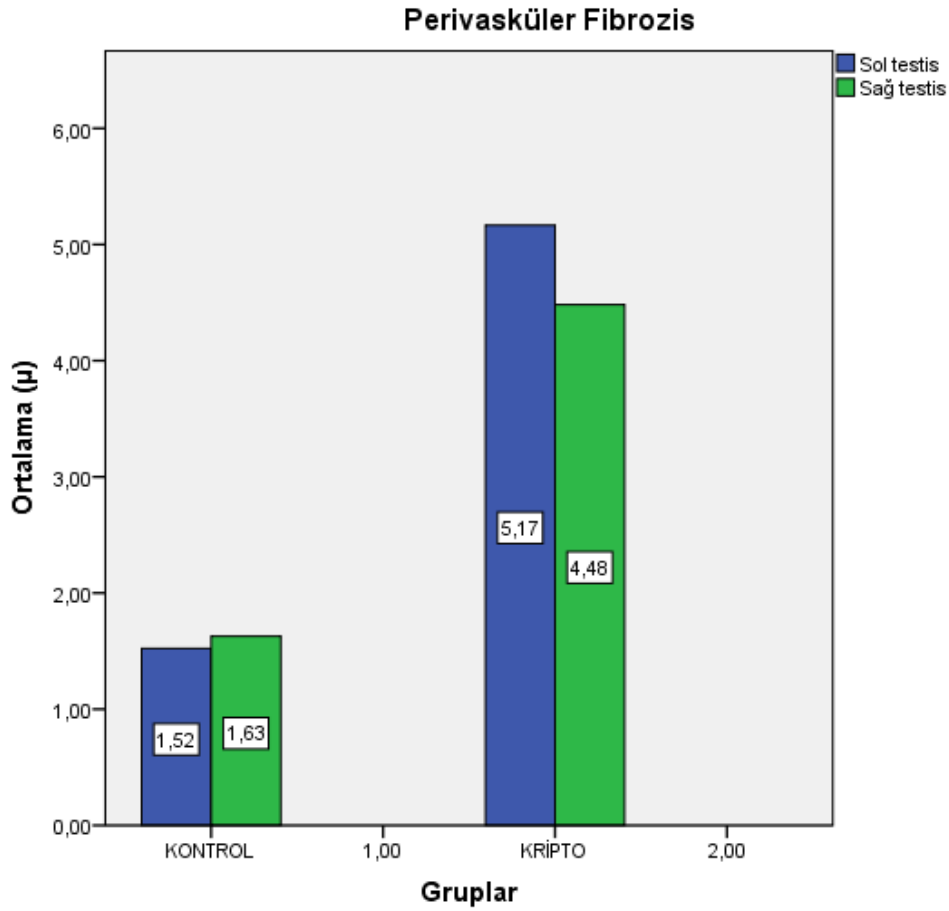
Şekik 4. 3. Sağ ve sol testis seminifer tübül çapının gruplar arası karşılaştırılması

4.1.4. Perivasküler fibrozis

Çalışmanın sonunda kontrol grubu ve kriptorşid deney grubundan oluşan hayvanların sol testis ve sağ testis damarları etrafındaki fibrozis kalınlıkları ölçüldü. Elde edilen sonuçlara göre gruplar arası sol ve sağ testis damarları etrafındaki fibrozis kalınlıklarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tesbit edildi ($p=0,001$ - $p=0,001$). Kriptorşid grubunda hem sol hem sağ testis perivasküler fibrozis kalınlığı artmıştır.

Tablo 4. 4. Deney gruplarına ait hayvanların sol ve sağ testis damar etrafındaki fibrozis kalınlıkları (Ortalama $\pm$ SD) gruplar ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri

Gruplar	Ortalama $\pm$ Standart Sapma (μ)	P değeri
Kontrol Sol	1,52 $\pm$ 1,20	0,001*
Kriptorşid Sol	5,17 $\pm$ 3,05	
Kontrol Sağ	1,63 $\pm$ 1,45	0,001*
Kriptorşid Sağ	4,48 $\pm$ 2,62	



Şekil 4. 4. Deney ve kontrol grubuna ait sol ve sağ testis damar etrafındaki perivasküler fibrozis kalınlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik

4.1.5. İnterstisyel ve peritübüler alanların fibrozisi

Deneyin sonunda kontrol ve kriptorşid deney gruplarından oluşan sıçanların sol ve sağ testis interstisyel alan ve peritübüler alandaki fibrozis değerlendirildiğinde, kriptorşid grubundaki sol ve sağ testis interstisyel alandaki fibrozisin kontrol grubundaki sol ve sağ testis interstisyel alandaki fibroze göre arttığını gözlemledik. Bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tesbit edildi ($P=0,001$).

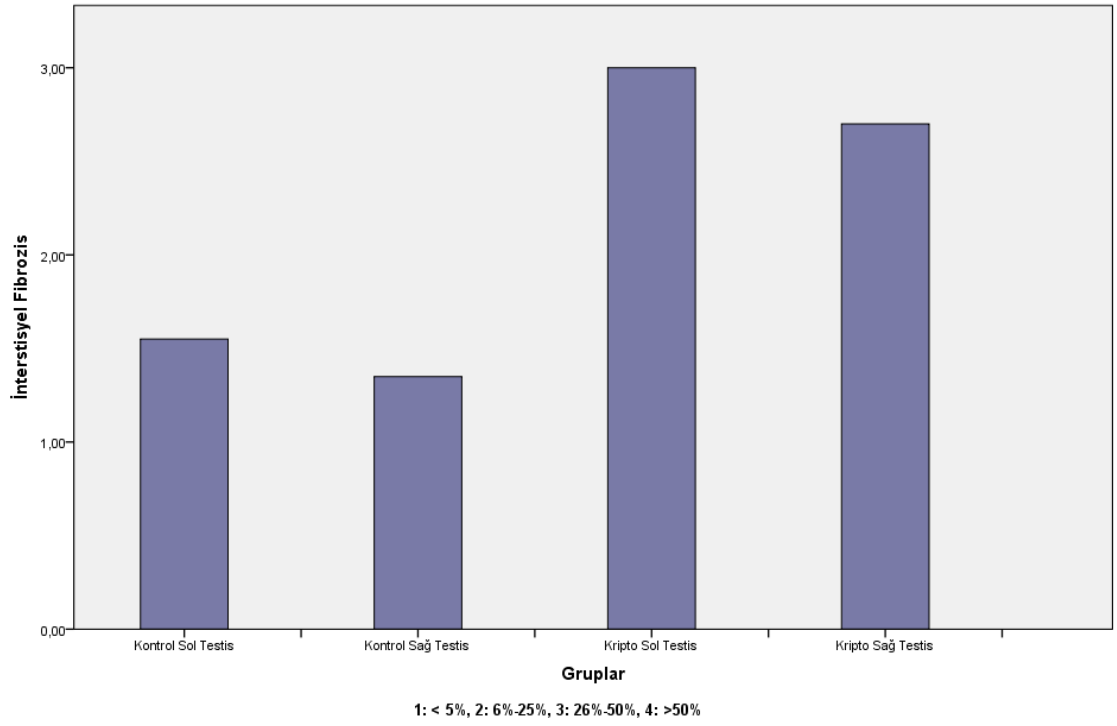
Peritübüler alandaki fibrozis değerlendirildiğinde ise kriptorşid grubunda sol testis peritübüler alandaki fibrozisin kontrol grubunun sol ve sağ testisine göre arttığını gözlemledik ve kriptorşid grubunda sol testis peritübüler alandaki fibroziste istatistiksel olarak anlamlı bir artış tesbit edildi ($P=0,001$). Kriptorşid grubunun sağ testisi ise kontrol grubundan farklı değildi

Tablo 4. 5. Sol ve sağ testis interstisyel alandaki fibrozis indeksinin gruplar arası karşılaştırmanın p değerleri, ortalama ve standart sapmaları

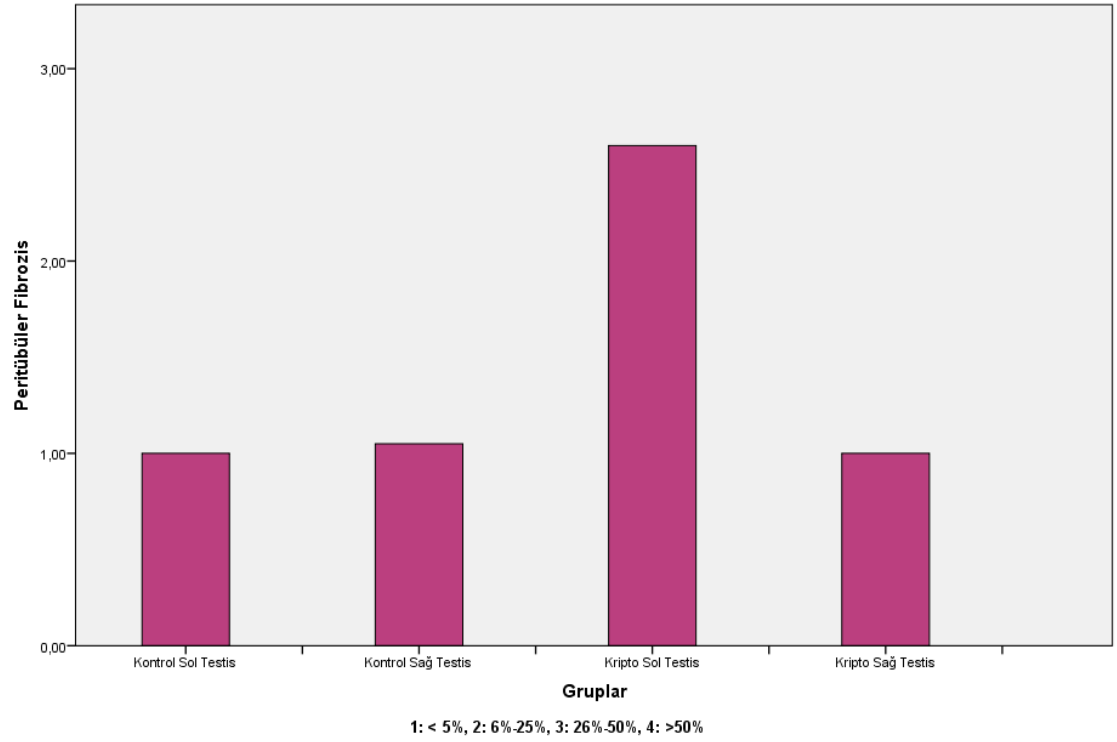
İnterstisyel Alan Fibrozis Karşılaştırılması		P Değerleri
Kontrol Sol Testis Ort±SD 1,55±0,51	Kontrol Sağ Testis	0,698
	Kriptorşid Sol Testis	0,001 *
	Kriptorşid Sağ Testis	0,001 *
Kontrol Sağ Testis Ort±SD 1.35±0,48	Kontrol Sol Testis	0,698
	Kriptorşid Sol Testis	0,001 *
	Kriptorşid Sağ Testis	0,001 *
Kriptorşid Sol Testis Ort±SD 3,0±0,56	Kontrol Sol Testis	0,001 *
	Kontrol Sağ Testis	0,001 *
	Kriptorşid Sağ Testis	0,367
Kriptorşid Sağ Testis Ort±SD 2,7±0,73	Kontrol Sol Testis	0,001 *
	Kontrol Sağ Testis	0,001 *
	Kriptorşid Sol Testis	0,367

Tablo 4. 6. Sol ve sağ testis peritübüler alandaki fibrozis indeksinin gruplar arası karşılaştırmanın p değerleri, ortalama ve standart sapmaları

Peritübüler Fibrozis Karşılaştırması		P Değerleri
Kontrol Sol Testis Ort±SD 1,0±0,0	Kontrol Sağ Testis	0,982
	Kriptorşid Sol Testis	0,001 *
	Kriptorşid Sağ Testis	1,000
Kontrol Sağ Testis Ort±SD 1,05±0,22	Kontrol Sol Testis	0,982
	Kriptorşid Sol Testis	0,001 *
	Kriptorşid Sağ Testis	0,982
Kriptorşid Sol Testis Ort±SD 2,6±0,82	Kontrol Sol Testis	0,001 *
	Kontrol Sağ Testis	0,001 *
	Kriptorşid Sağ Testis	0,001 *
Kriptorşid Sağ Testis Ort±SD 1,0±0,0	Kontrol Sol Testis	1,000
	Kontrol Sağ Testis	0,982
	Kriptorşid Sol Testis	0,001 *



Şekil 4. 5. Sol ve sağ testis interstisyel alan fibrozis indeks değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik



Şekil 4. 6. Sol ve sağ testis peritübüler alan fibrozis indeks değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik

4.1.6. Peritübüler ve interstisyel alan mast hücre sayısı

Deneyin sonunda kriporşid grubunun sol testislerinde kontrol grubunun sol ve sağ testislerine göre ve kriporşid grubunun sağ testislerine göre interstisyel alandaki mast hücre sayısında istatistiksel açıdan anlamlı bir artış $P= (0,00)$ olduğu tespit edildi.

Aynı zamanda kriporşid grubunun sağ testislerinde de kontrol grubunun sol ve sağ testislerine göre ortalama mast hücre sayısında artış vardı; fakat istatistiksel açıdan anlamlı değildi $P= (1,00)$.

Kriporşid grubunun sol testislerinde kontrol grubunun sol ve sağ testislerine göre peritübüler alandaki mast hücre sayısında istatistiksel açıdan anlamlı bir artış $P= (0,003)$ olduğu tespit edildi.

Kriporşid grubunda sol testiste tunika albuginea altındaki interstisyel alanda damarların etrafında ve interstisyel alanlardaki mast hücrelerinin kümeler halinde sayıca arttığı saptandı

Aynı zamanda kriporşid grubunun sağ testislerinde de kontrol grubunun sol ve sağ testislerine göre peritübüler alanda ortalama mast hücre sayısında artış vardı; fakat istatistiksel açıdan anlamlı değildi $P= (0,76)$.

Kriporşid grubunun inmemiş sol testis ile kontrol grubunun sol testislerinde peritübüler alandaki fibrozis ile mast hücre sayısı arasında bir korelasyon var mı diye SPSS ile pearson correlation testi yapıldı. Test sonucuna göre korelasyon kat sayısı 0.165 olarak bulundu. Bu da pozitif bir değer olduğundan peritübüler alandaki fibrozis ile mast hücre sayısı arasında pozitif bir korelasyon olduğunu saptadık.

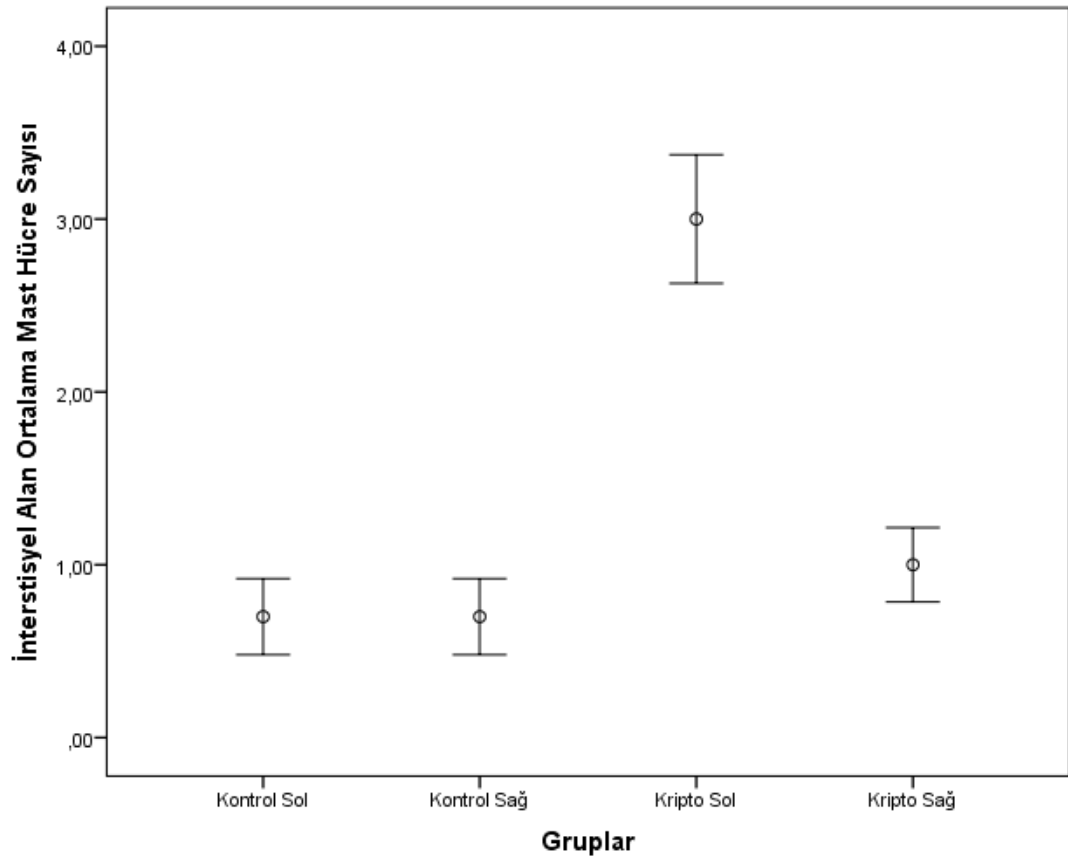
Kriporşid grubunun inmemiş sol testis ile kontrol grubunun sol testislerinde peritübüler alandaki fibrozis ile mast hücre sayısı arasında bir korelasyon var mı diye SPSS ile pearson correlation testi yapıldı. Test sonucuna göre korelasyon kat sayısı 0 olarak bulundu. Bu da pozitif bir değer olduğundan interstisyel alandaki fibrozis ile mast hücre sayısı arasında pozitif bir korelasyon olduğunu saptadık.

Tablo 4. 7. Kontrol ve kriptorşid grubunun sol ve sağ testis interstisyel alandaki mast hücre sayı ortalaması ve standart sapması

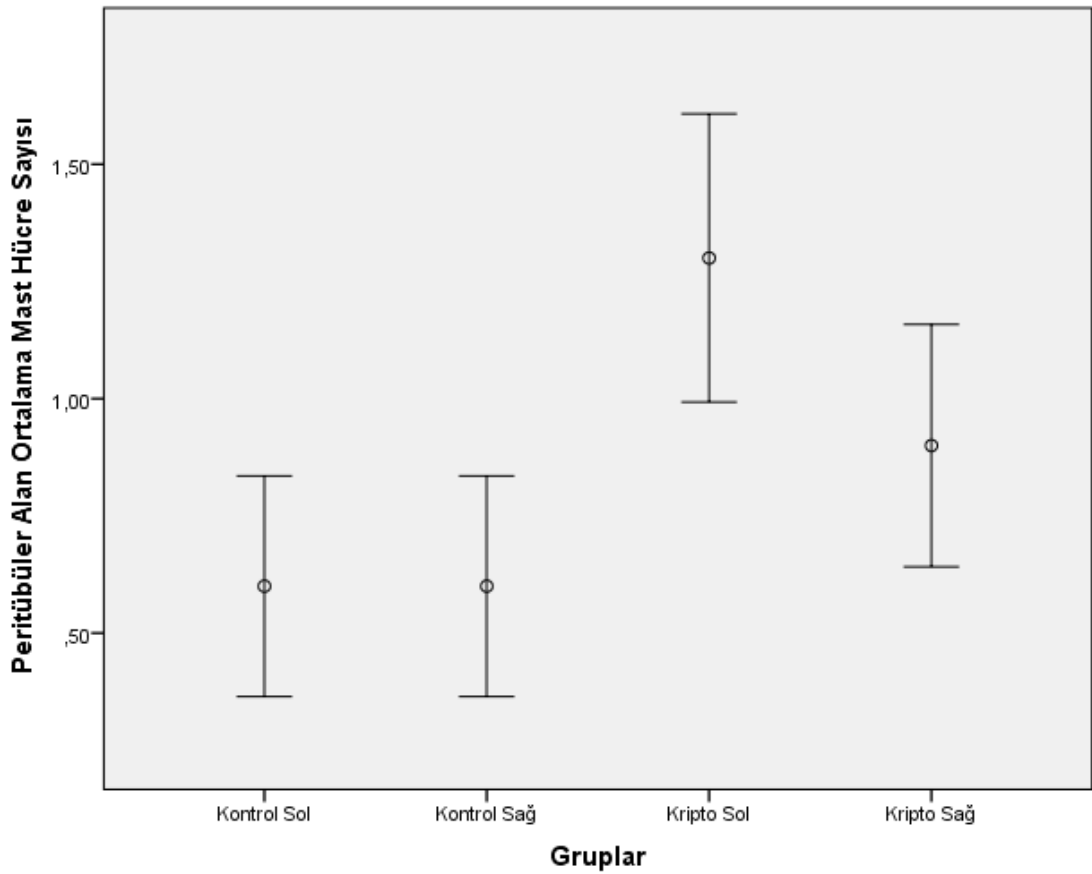
İnterstisyel Alandaki Ortalama Mast Hücre Sayısı ve Standart Sapması		P Değerleri
Kontrol Sol Testis Ort±SD 0,7±0,47	Kontrol Sağ Testis	1,000
	Kriptorşid Sol Testis	0,000*
	Kriptorşid Sağ Testis	1,000
Kontrol Sağ Testis Ort±SD 0,7±0,47	Kontrol Sol Testis	1,000
	Kriptorşid Sol Testis	0,000*
	Kriptorşid Sağ Testis	1,000
Kriptorşid Sol Testis Ort±SD 3,0±0,79	Kontrol Sol Testis	0,001 *
	Kontrol Sağ Testis	0,001 *
	Kriptorşid Sağ Testis	0,001 *
Kriptorşid Sağ Testis Ort±SD 1,0±0,45	Kontrol Sol Testis	1,000
	Kontrol Sağ Testis	1,000
	Kriptorşid Sol Testis	0,001 *

Tablo 4. 8. Kontrol ve kriptorşid grubunun sol ve sağ testis peritübüler alandaki ortalama mast hücre sayısı ve standart sapması

Peritübüler Alandaki Ortalama Mast Hücre Sayısı ve Standart Sapması		P Değerleri
Kontrol Sol Testis Ort±SD 0,60±0,52	Kontrol Sağ Testis	1,000
	Kriptorşid Sol Testis	0,003*
	Kriptorşid Sağ Testis	0,76
Kontrol Sağ Testis Ort±SD 0,60±0,52	Kontrol Sol Testis	1,000
	Kriptorşid Sol Testis	0,003*
	Kriptorşid Sağ Testis	0,736
Kriptorşid Sol Testis Ort±SD 1,30±0,65	Kontrol Sol Testis	0,003*
	Kontrol Sağ Testis	0,003 *
	Kriptorşid Sağ Testis	0,342
Kriptorşid Sağ Testis Ort±SD 1,90±0,55	Kontrol Sol Testis	0,76
	Kontrol Sağ Testis	0,76
	Kriptorşid Sol Testis	0,342



Şekil 4. 7. Kontrol ve kriptorşid grubunun sol ve sağ testis intersitisyel alandaki ortalama mast hücre sayısını gösteren grafik



Şekil 4. 8. Kontrol ve kriptorşid grubunun sol ve sağ testis peritübüler alandaki ortalama mast hücre sayısını gösteren grafik

4.2. Histopatolojik Bulgular

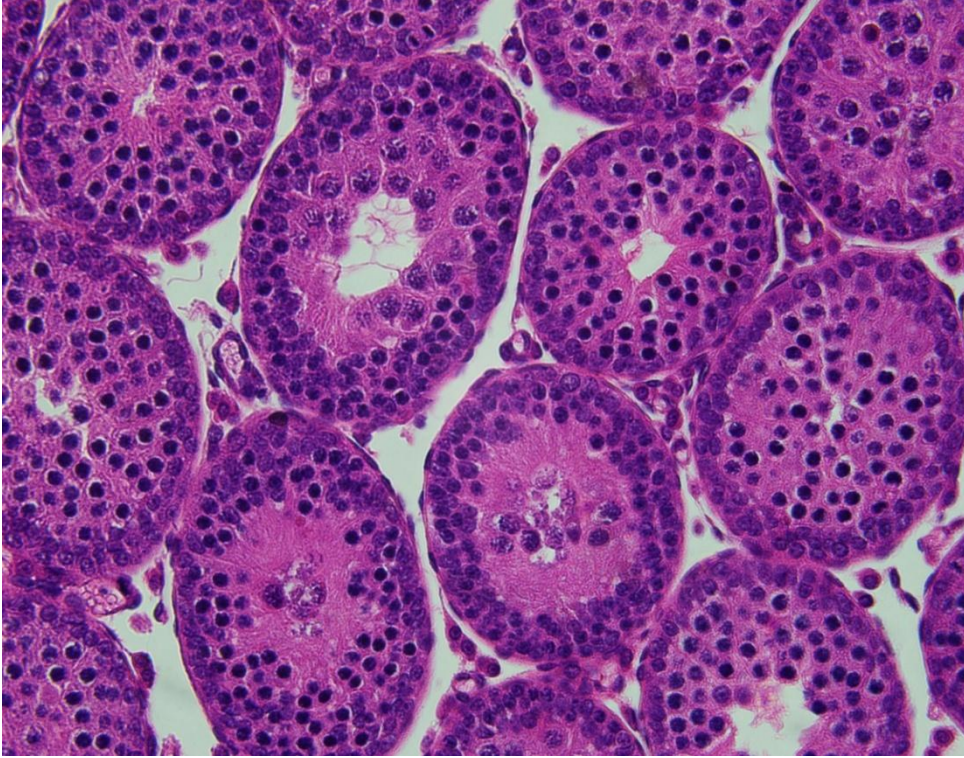
Çalışmada deney (tek taraflı kriptorşidizm modeli) ve kontrol grubunu oluşturan hayvanların testis dokularının ışık mikroskopunda görüntü elde edebilmek için Hematoksilen-Eozin (H-E), fibrozisi değerlendirmek için Masson Trikom (TRI) ve mast hücrelerini görüntülemek için ise Toluidin Mavisi boyama işlemi yapıldı.

Kontrol Grubu; sıçanların sol testis ve sağ testis doku örneklerinin ışık mikroskobu kullanılarak elde edilen görüntülerin incelenmesinde, interstisyel alan ve seminifer tübülleri histolojik olarak normal yapıda gözlemlendi. Seminifer tübüllerin yapısı ve bütünlüğü normaldi, germinal epitel normal yapıdaydı ve seminifer tübüllerin çapı ($118,35 \pm 8,64$; $116,07 \pm 7,83$) değerlerde bulundu.

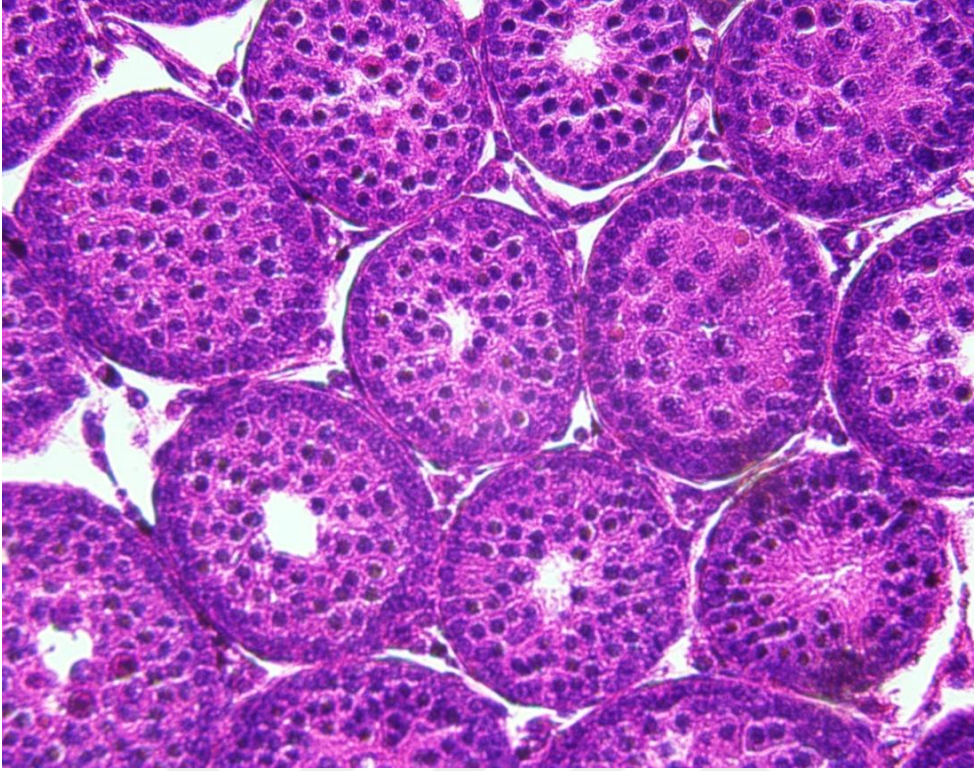
Kriptorşid Grubu; Deney hayvanlarından kriptorşidizm modeli oluşturulmuş testis dokularının ışık mikroskopik incelemesinde kontrol grubu ile kıyaslandığında seminifer

tübül çaplarında istatistiksel olarak anlamlı bir ($p=0,001$) azalma, germinal epitelin bazal membrandan ayrılması (**Resim 4.6**), lümene hücre dökülmesi ve interselüler alanda vakuolizasyon, interstisyel alanda tübüllerin birbirinden ayrılması, ödem (**Resim 4.3**), perivasküler fibroziste (**Resim4.7**) istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,001$) bir artış ile konjesyon (**Resim4.5**) ve hemoraji gözlemlendi.

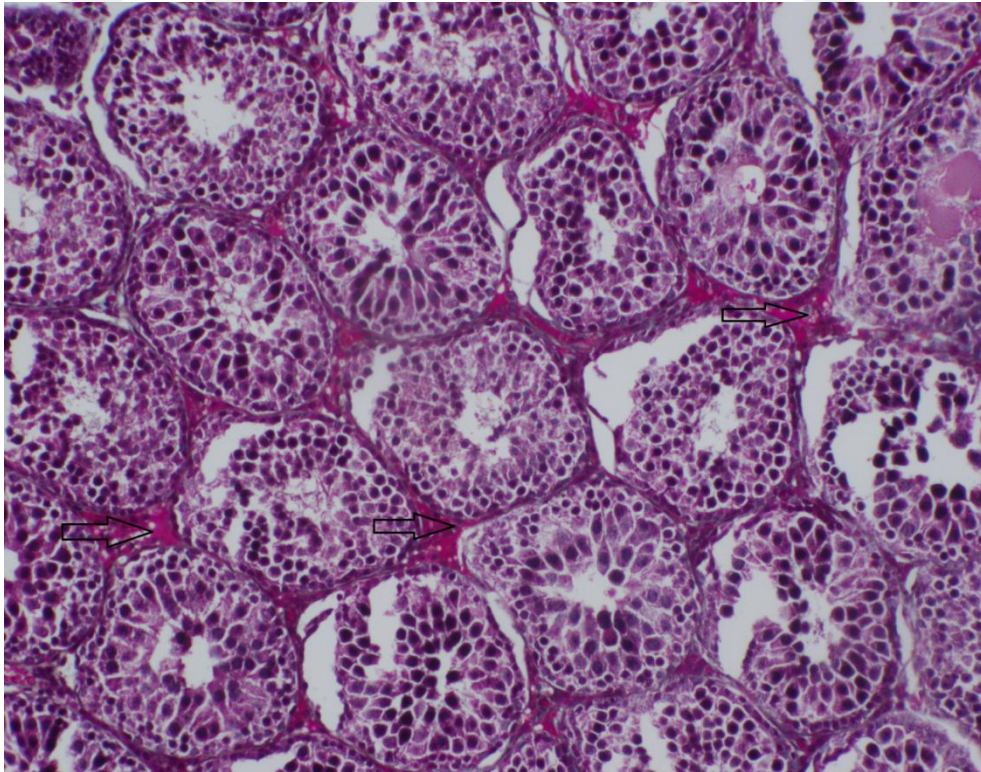
Deney grubunun inmiş sağ testis örneklerinde, sol kriptorşid oluşturulmuş testis örneklerine göre daha az olmakla birlikte, benzer bulgular elde edildi. Deney grubunun (tek taraflı kriptorşidizm oluşturulmuş) inmiş sağ testis seminifer tübül çapı inmemiş sol testis seminifer tübül çapına göre ($p=0,001$) artmış, perivasküler fibrozis ($p=0,001$) azalmış olarak tesbit edildi.



Resim 4. 1. Kontrol grubuna ait sol testis ışık mikroskopik görüntüsü H-E, 40×



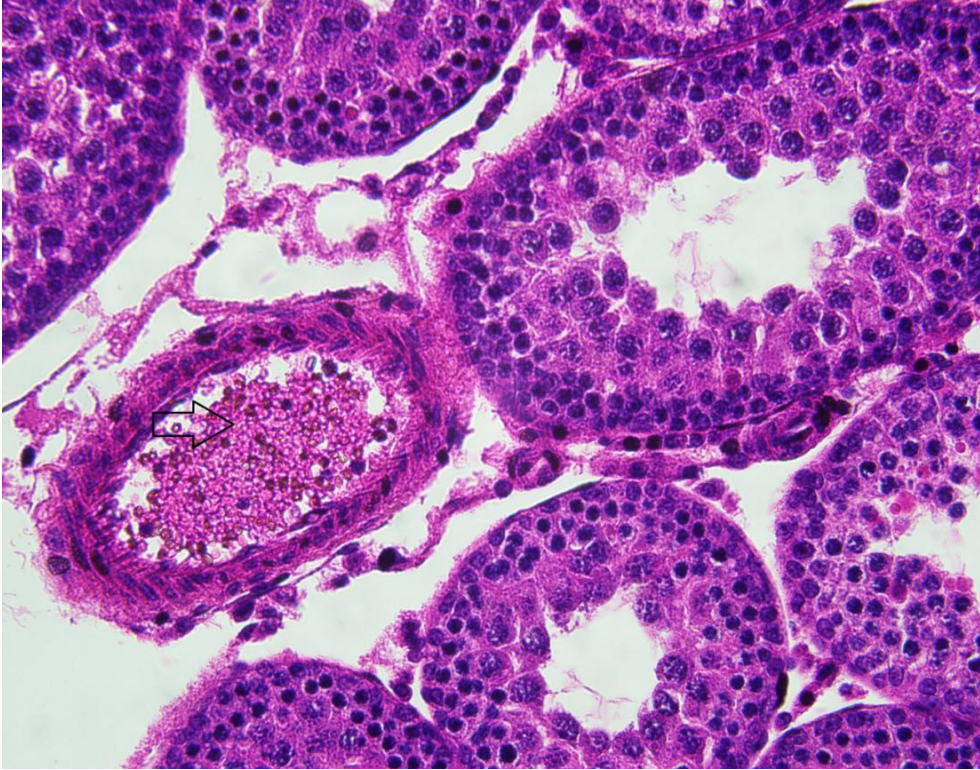
Resim 4. 2. Kontrol grubuna ait sağ testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü H-E, 40x



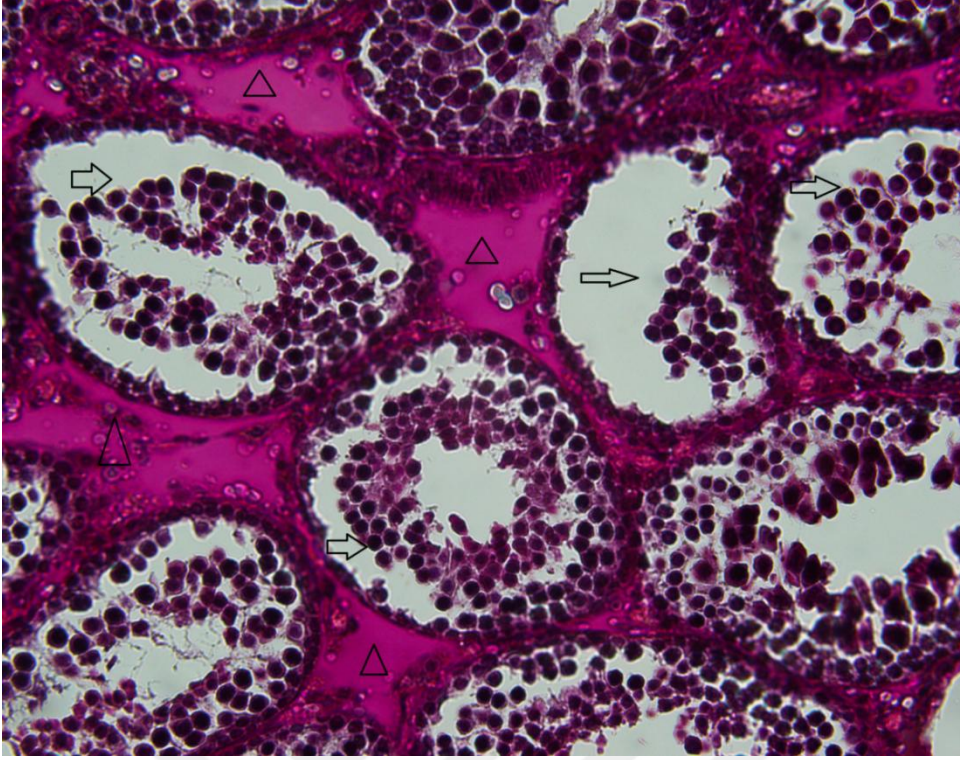
Resim 4. 3. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü ($\Rightarrow$ ödem) H-E, 40x



Resim 4. 4. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü (⇨ konjesyon, ☆ interstisyel alanda seminifer tübüllerin birbirinden ayrılması) H-E,40x



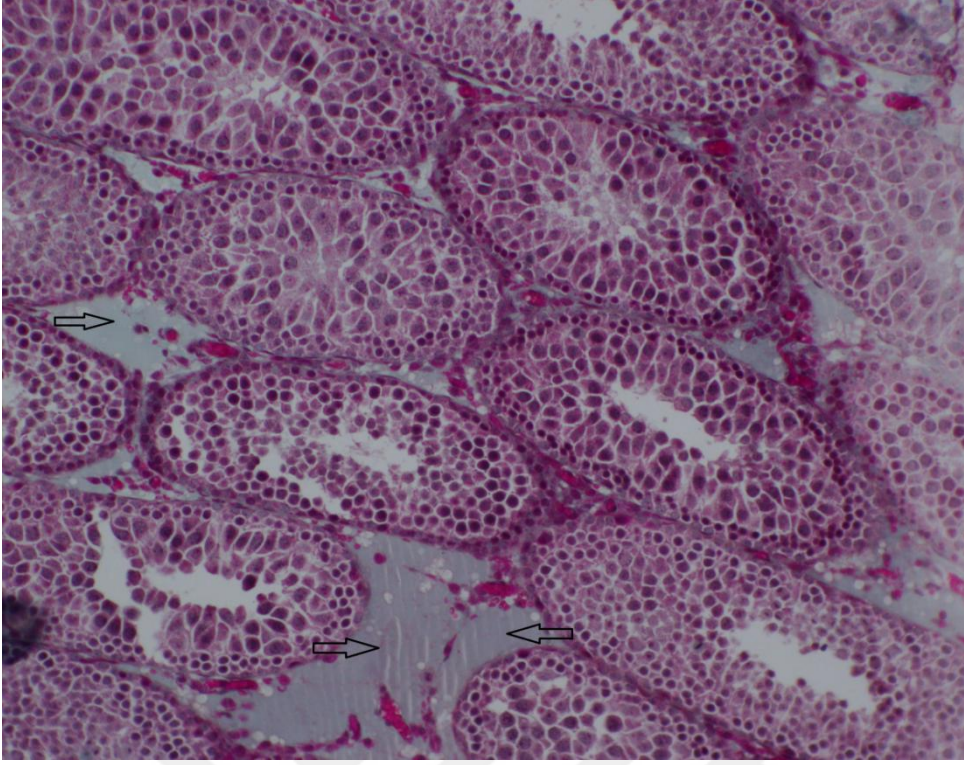
Resim 4. 5. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü (⇨ konjesyon) H-E,40



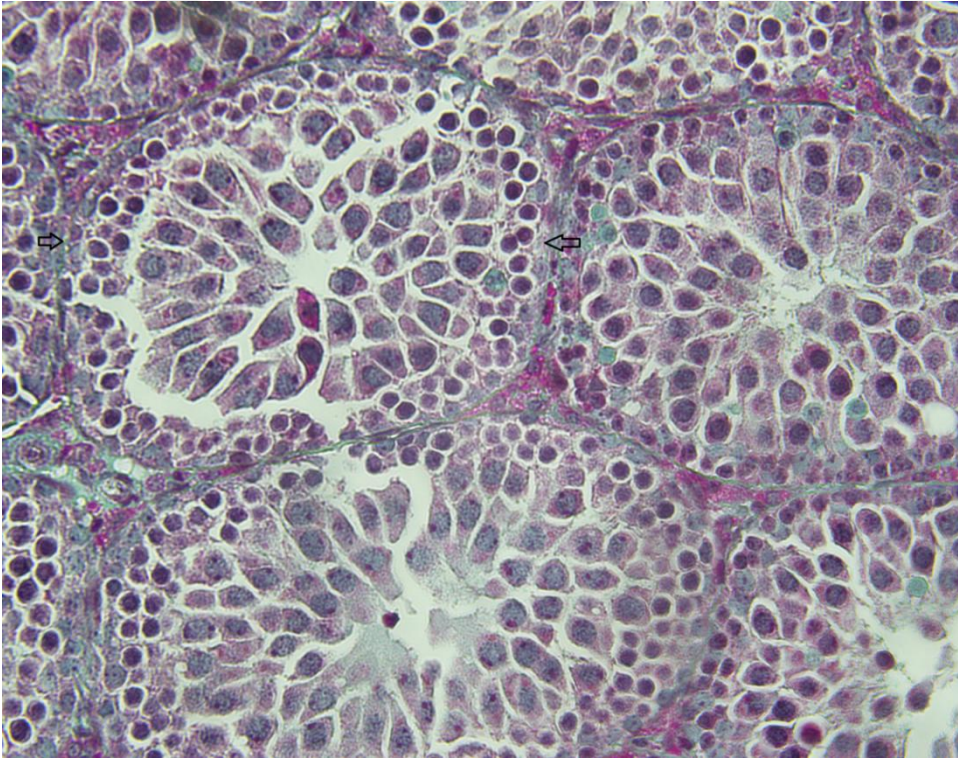
Resim 4. 6. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü (⇨ bazal membrandan ayrılma, Δ ödem) TRI,40x



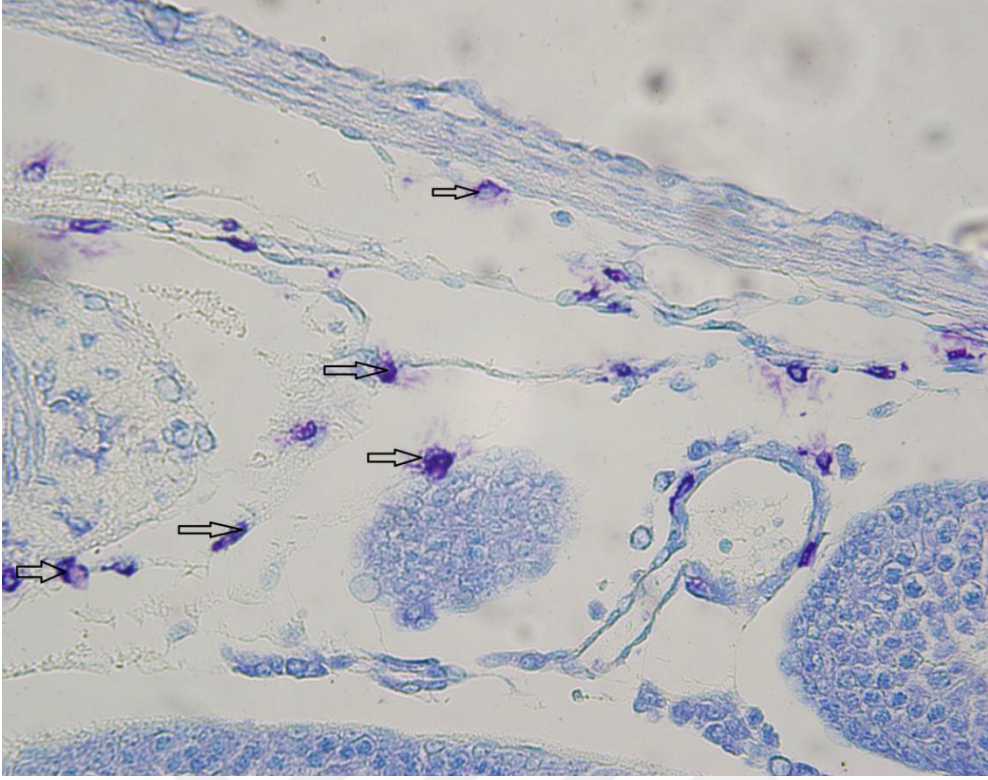
Resim 4. 7. Deney grubuna ait sol testisdokusunun ışık mikroskopik görüntüsü (⇨ perivasküler fibrozis) TRI,40x



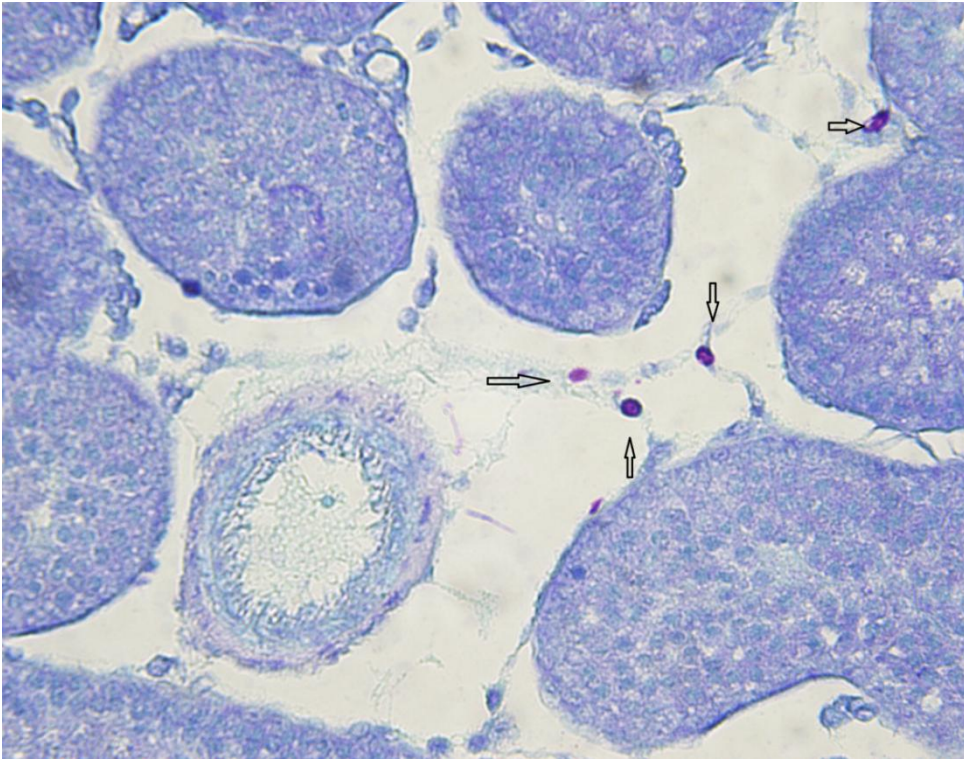
Resim 4. 8. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü ($\Rightarrow$ interstisyel alanda fibrozis) TRI,40x



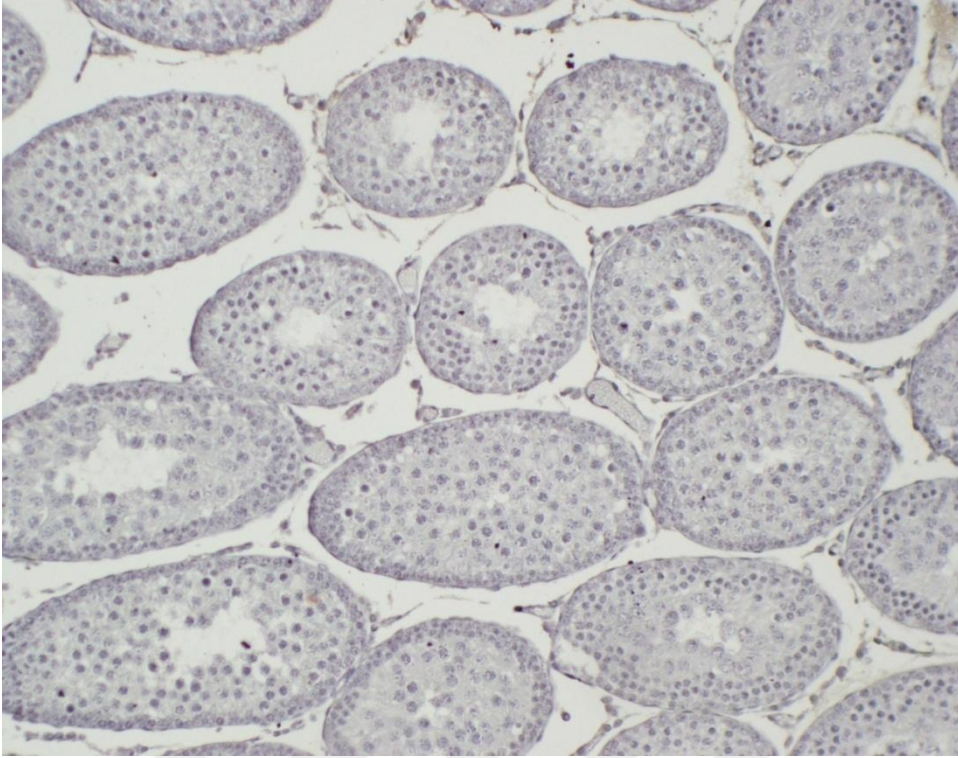
Resim 4. 9. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü ($\Rightarrow$ peritübüler fibrozis) TRI,40x



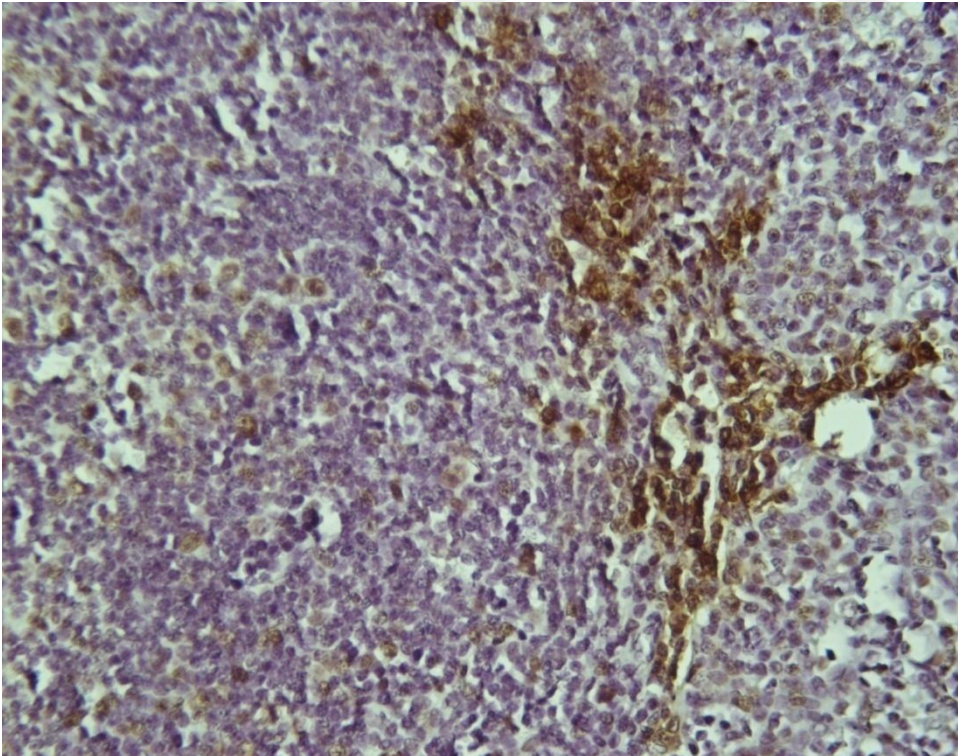
Resim 4. 10. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü (⇒ mast hücreleri)
Toluidin mavisi,40x



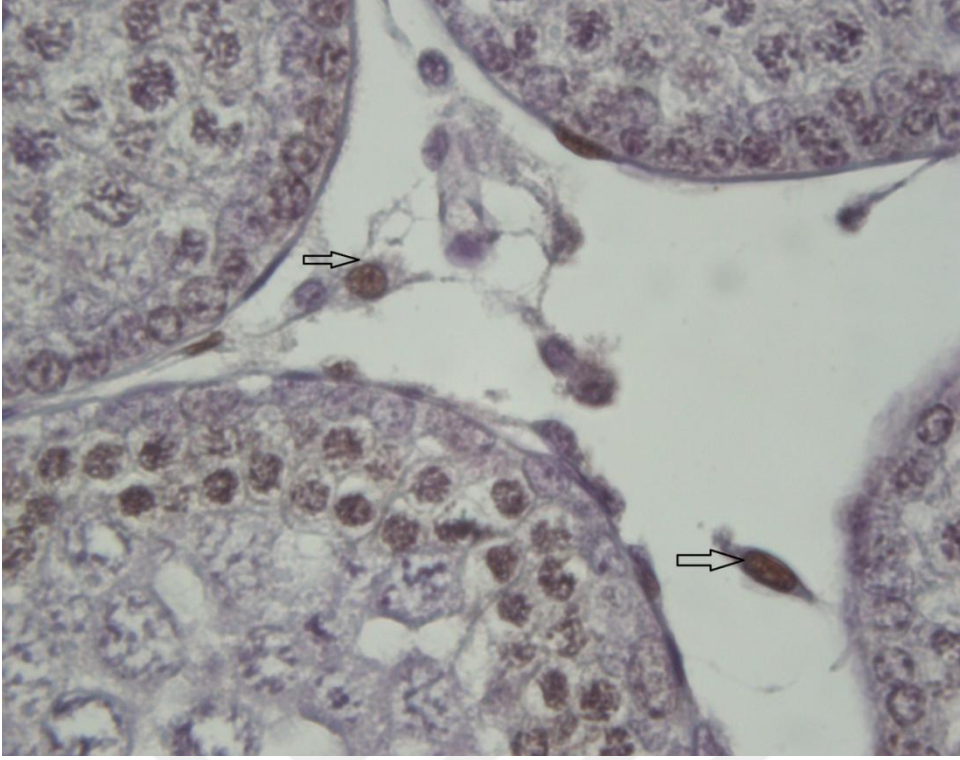
Resim 4. 11. Deney grubuna ait sol testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü (⇒ mast hücresi)
Toluidin mavisi,40x



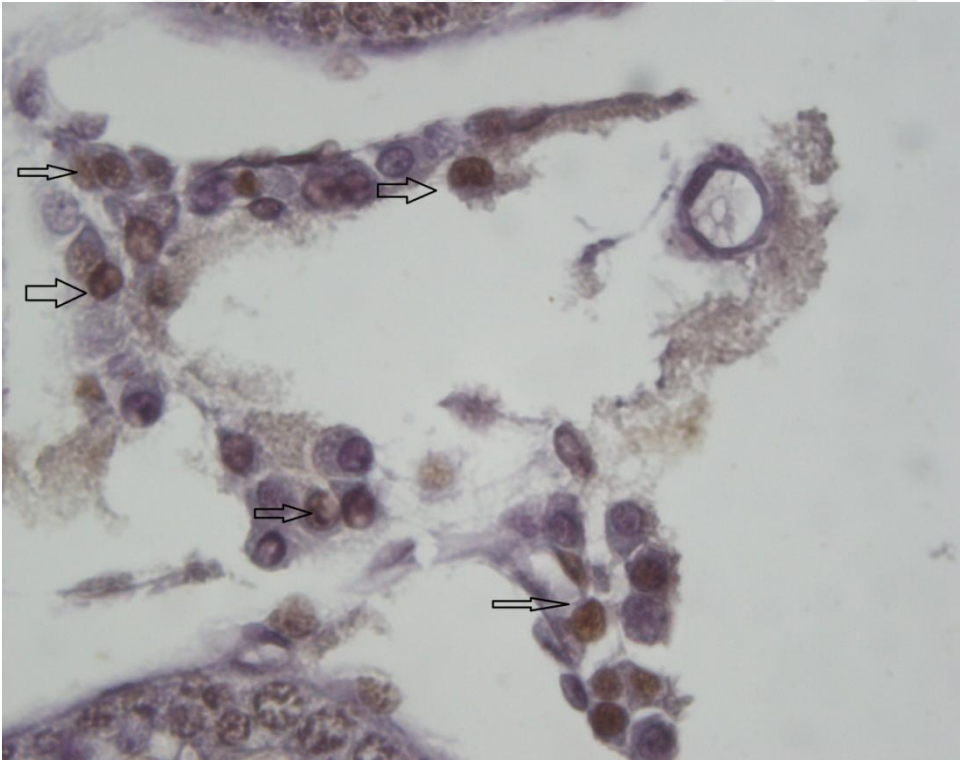
Resim 4. 12. Testis negatif kontrol boyama (Anti-mast cell tryptase antibody, x40)



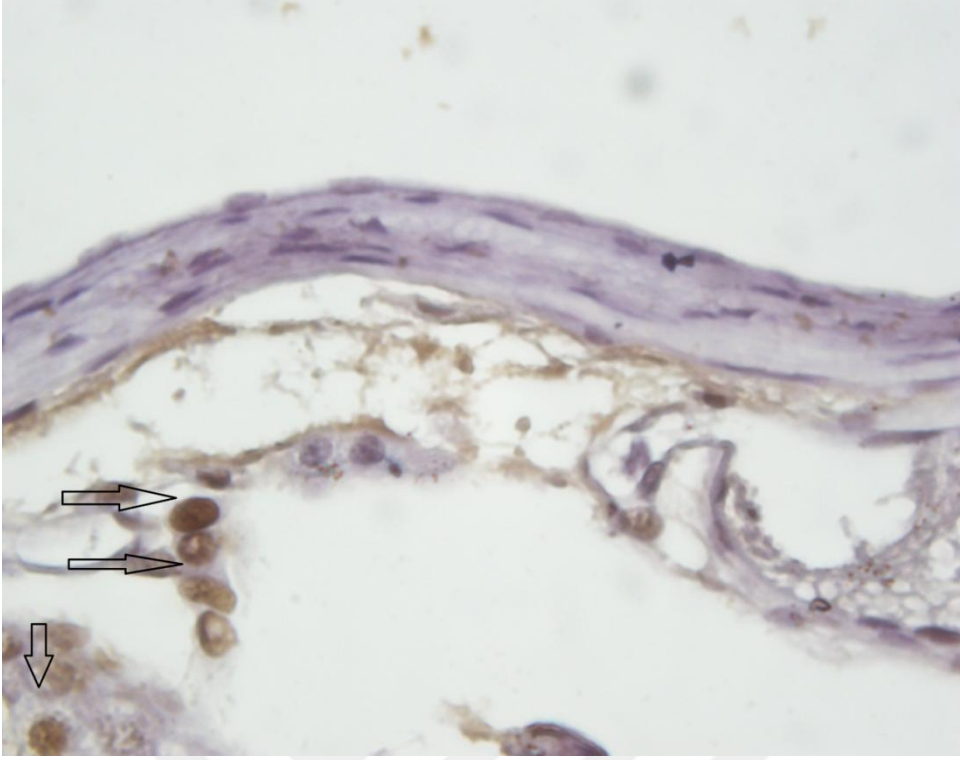
Resim 4. 13. Tonsil pozitif kontrol boyama (Anti-mast cell tryptase antibody, x40)



Resim 4. 14. Kontrol grubu sol testis interstisyel alan($\Rightarrow$ mast hücre, Anti mast cell tryptase antibody, x40)



Resim 4. 15. Kripto grubu sol testis interstisyel alan ($\Rightarrow$ mast hücre, Anti mast cell tryptase antibody, x40)



Resim 4. 16. Kripto grubu sol testis tunika albuginea altı (⇨ mast hücre, Anti mast cell tryptase antibody, x40)

4.4. Elektron Mikroskopik Bulgular

Sağ Testis:

Sol testiste kriptorşidizm modeli oluşturulan sıçanlardan elde edilen sağ testis doku örnekleri seminifer tübül ve interstisyum ince yapı düzeyinde değerlendirildi. Bazal lamina, miyoid hücreler ve kollajen liflerden oluşan membrana propria total kalınlığında yer yer artış gözlemlendi (**Resim 4.17, 4.18**). Bazı alanlarda bazal laminada düzensizlikler hakimdi. Normal elektron densiteye sahip miyoid hücrelerin ise çekirdekleri yassı şekilli olup, periferik kromatin içermekteydi. Sitoplazmalarında da az sayıda mitokondriyon ve mikropinositotik veziküller bulunmaktaydı. Bazal lamina üzerinde yer alan sferik ve merkezi yerleşimli çekirdeğe sahip spermatogonyumların sitoplazmaları büzüşmüştü. Organeller yönünden fakir olan sitoplazmaları birkaç mitokondriyon ve endoplazmik retikulum sisternaları içermekteydi. Seminiferöz tübül epitel hücreleri arasında, birbirlerine sitoplazmik köprülerle bağlı normal elektron densiteye sahip spermatositlerin çekirdek zarlarında da yer yer düzensizlikler izlendi. Sitoplazmaları ise normal yapıda olup gruplaşmış mitokondriyonlar, mikrotübüller, ER

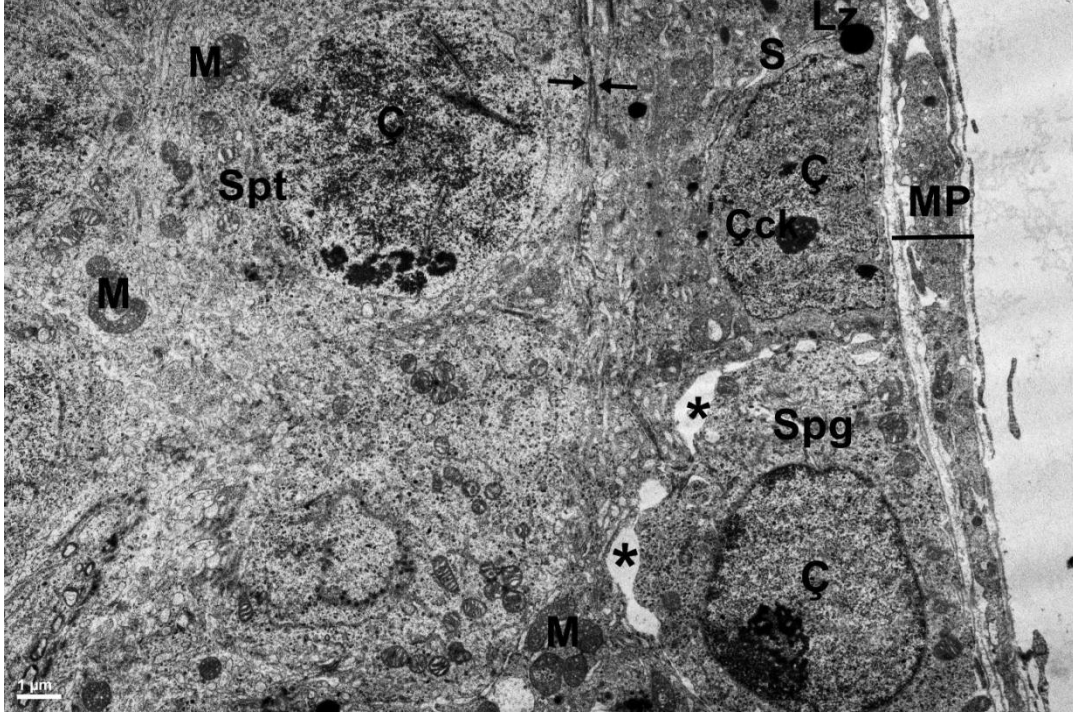
sisternaları sergilemekteydi. Spermatojenik hücreler arasında sitoplazmik köprüler bütünlüklerini korumaktaydı. Üçgen ya da oval şekilli, indentasyonlu çekirdeğe ve bir çekirdekçiğe sahip olan Sertoli hücrelerinin, bazaldan lümene kadar uzanan sitoplazmalarında iyi gelişmiş agranüler endoplazmik retikulum (SER), belirgin Golgi kompleksi ve az gelişmiş granüler endoplazmik retikulum (GER) ve lizozozomlar gözlemlendi. Lipid damlacıkları yönünden zengin olan bu hücreler, ayrıca tübüler tip mitokondriyonlara da sahipti. Komşu Sertoli hücreleri arasında sıkı bağlantı komplekslerinin de bütünlüklerini koruduğu belirlendi (**Resim 4.17, 4.18**).

İnterstisyumda fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri, kan ve lenf damarlarının yanı sıra steroid hormon sentezinden sorumlu Leydig hücreleri de bulunmaktaydı. Düzensiz sınırlı çekirdeğe sahip Leydig hücrelerinin sitoplazmalarında, normal yapıda tübüler kristal mitokondriyonlar bulunmakla birlikte, lipid damlacığı sayısında azalma dikkati çekti. İnterstisyumdaki mast hücreleri özellikle kan damarlarına yakın yerleşim göstermekteydi. Merkezi yerleşimli çekirdeğe sahip olan bu hücrelerin sitoplazmalarında çok sayıda elektron dens granüller izlendi (**Resim 4.19**).

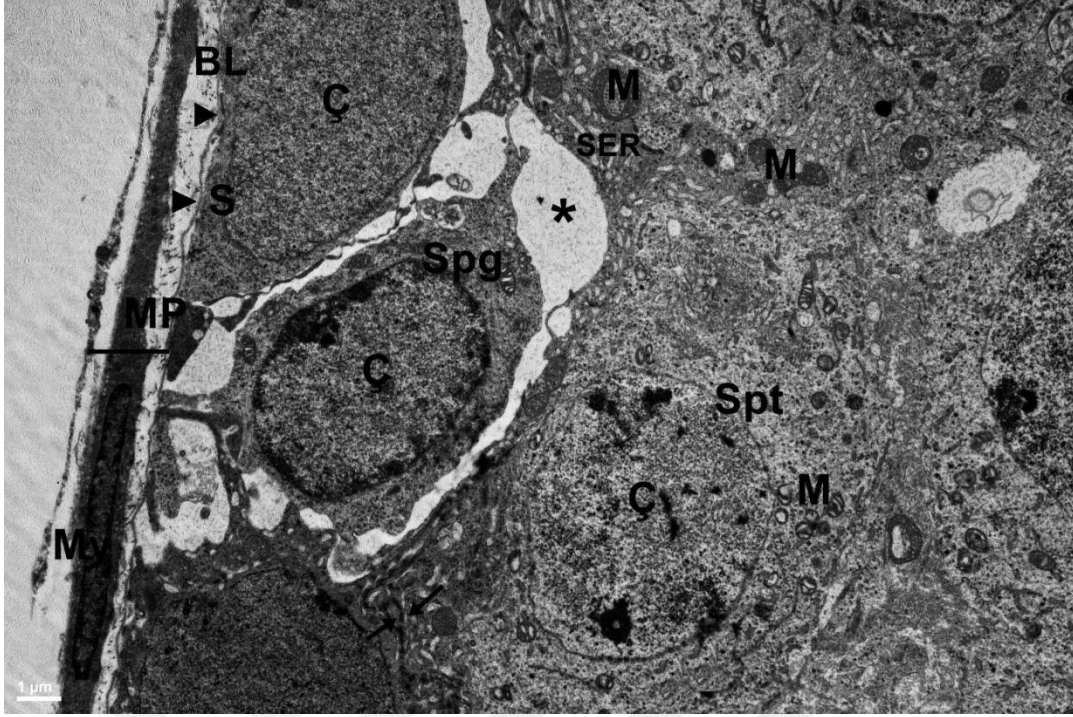
Sol Testis:

Kriptorşidizm modeli oluşturulan sıçanlardan elde edilen sol testis doku örnekleri ince yapı düzeyinde değerlendirilmesinde, seminifer tübül ve interstisyumda şiddetli dejeneratif değişiklikler görüldü. Bazal lamina ve miyoid hücrelerden oluşan membrana propria total kalınlığının belirgin şekilde arttığı ve düzensiz bir hal aldığı belirlendi (**Resim 4.21, 22**) Miyoid hücre sitoplazmalarındaki mikropinositotik veziküllerin dens hale geldiği izlendi. Spermatojenik hücre sayısındaki azalmaya paralel olarak, tübül epitelinde düzensiz geniş boşluklar gözlemlendi. Sertoli-Sertoli hücreleri ve Sertoli-spermatojenik hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar ile spermatojenik hücrelerin kendi aralarındaki sitoplazmik köprüler bütünlüğünü yitirmişti (**Resim4.22**). Elektron dens hale gelen Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarında yoğun SER vakuolizasyonu ve anormal kristaya sahip mitokondriyonlar bulunmaktaydı (**Resim 4.21-4.22**). Bazal lamina üzerinde sferikal ve merkezi yerleşimli çekirdeğe sahip spermatogonyumlar büzüşmüş ve çevrelerinde düzensiz boşluklar oluşmuştu. Sinaptonemal kompleks varlığıyla karakterize çekirdeğe sahip spermatositlerin çekirdek membranında ayrışma ve çözünmeler ile sitoplazmalarında vakuolizasyon ve dejenere mitokondriyonların varlığı dikkat çekti (**Resim 4.21**)

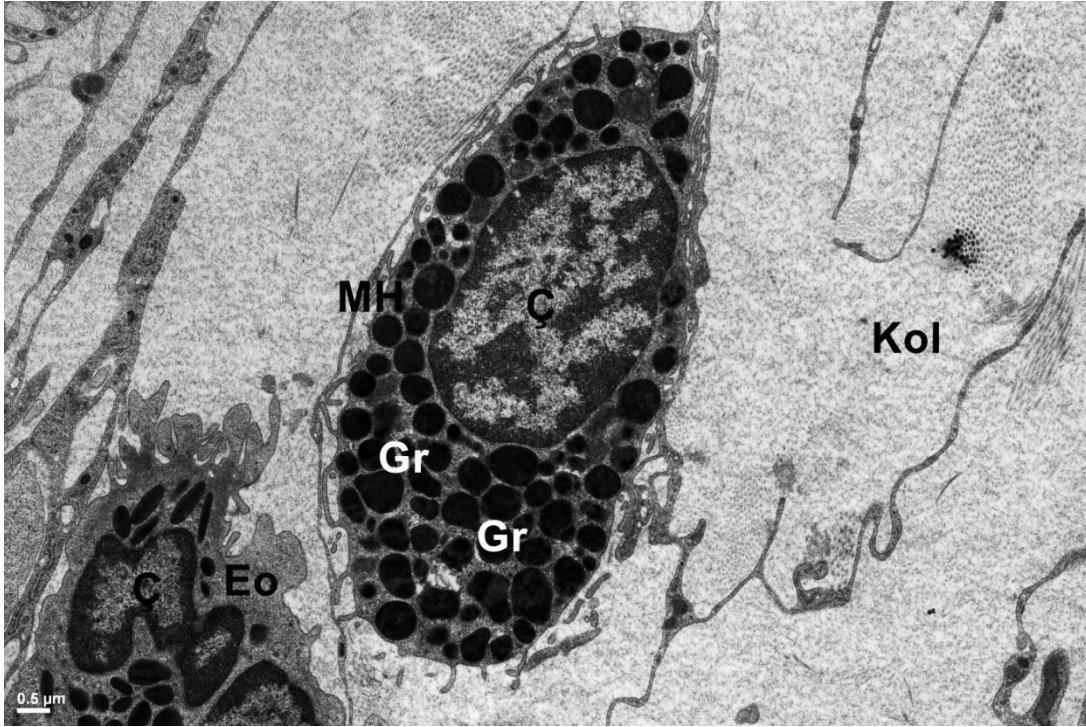
Normal elektron densiteye sahip Leydig hücrelerinde, düzensiz sınırlı çekirdek periferik kromatin sergilemekteydi. Sitoplazma, azalmış lipid damlacıkları ve SER vakuolizasyonu ile normal görünümde mitokondriyonlar içermekteydi (**Resim 4.23**). İnteristisyumda merkezi yerleşimli çekirdeğe sahip mast hücrelerinin sitoplazmalarında ise çok sayıda elektron dens granüller bulunmaktaydı (**Resim 4.24**). Mast hücreleri, makrofajlar başta olmak üzere diğer bağ doku hücreleri ile yakın konumda yerleşmişti.



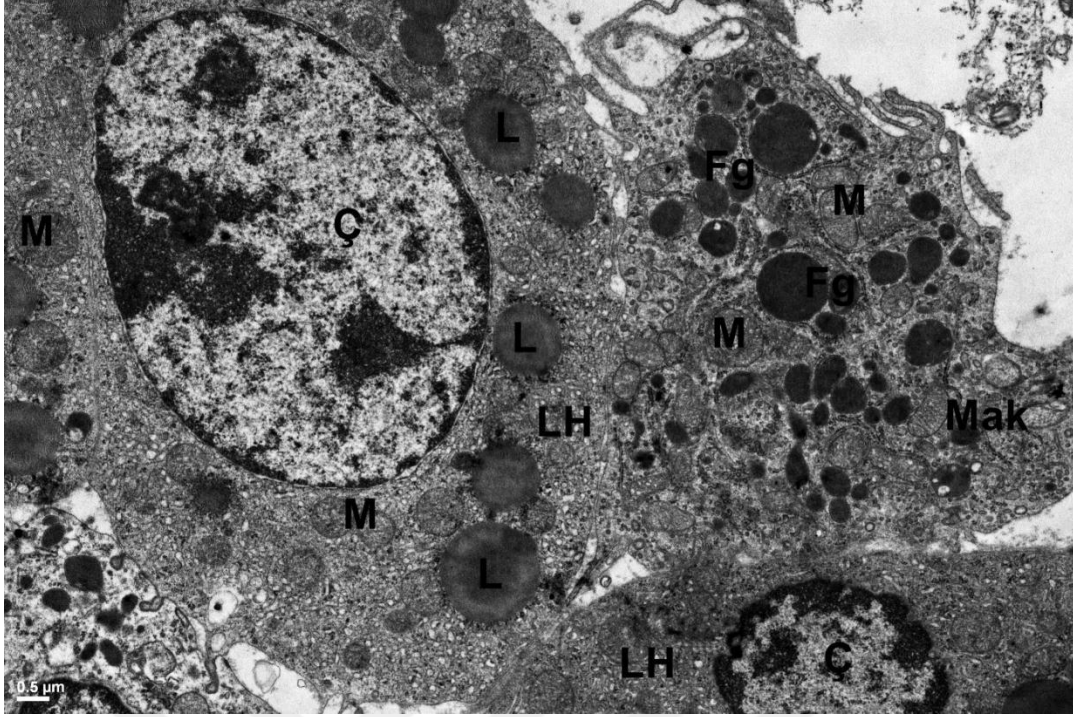
Resim 4. 17. Sağ testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü. Membrana propria (MP) total kalınlığında hafif artış ve spermatogonyumlarda (Spg) büzüşmeye bağlı hücreler arası boşluklar (*) izlenmektedir. Sertoli hücreleri (S) ve spermatositler (Spt) normal yapıda görülmektedir. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar (ok) intaktır. Çekirdek (Ç), Çekirdekçik (Çck), Mitokondriyon (M) ve Lizozom (Lz). Bar: 1 µm.



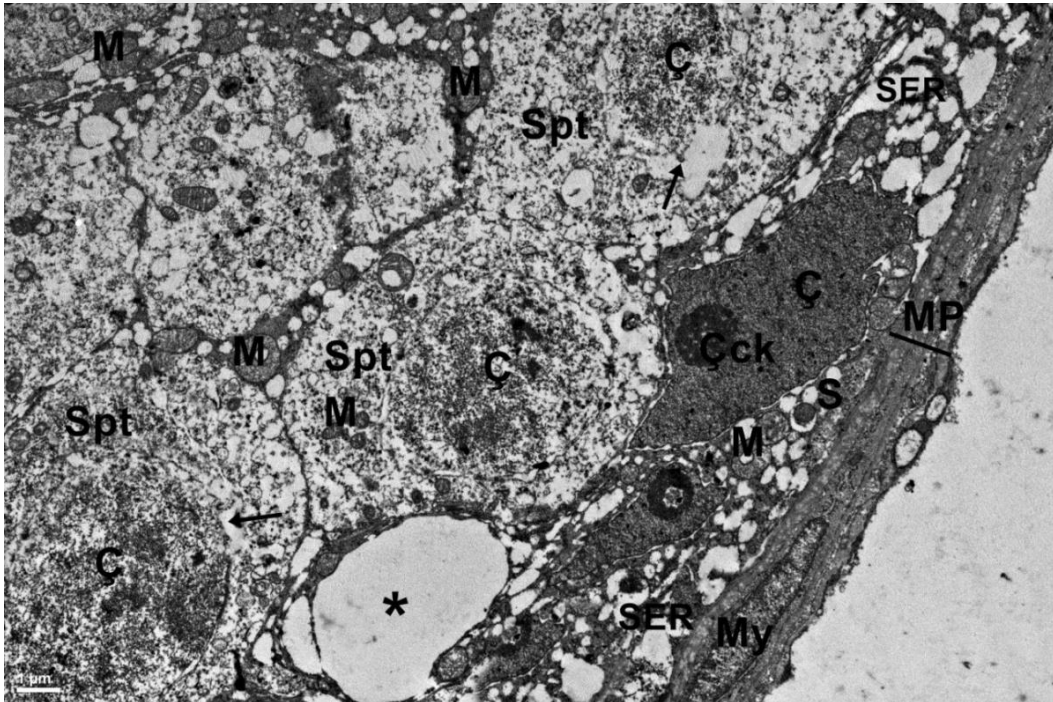
Resim 4. 18. Sağ testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü. Membrana propria (MP) total kalınlığında hafif artış ile bazal lamina'da (BL) yer yer düzensizlikler (ok başı) ve spermatogonyumlarda (Spg) büzüşmeye bağlı hücreler arası boşluklar (*) görülmektedir. Sertoli hücreleri (S) ve spermatozitler (Spt) normal görünümündedir. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar (ok) normal yapıdadır. Çekirdek (Ç), Miyoid hücre (My), Mitokondriyon (M) ve Agranüler endoplazmik retikulum (SER). Bar: 1 µm.



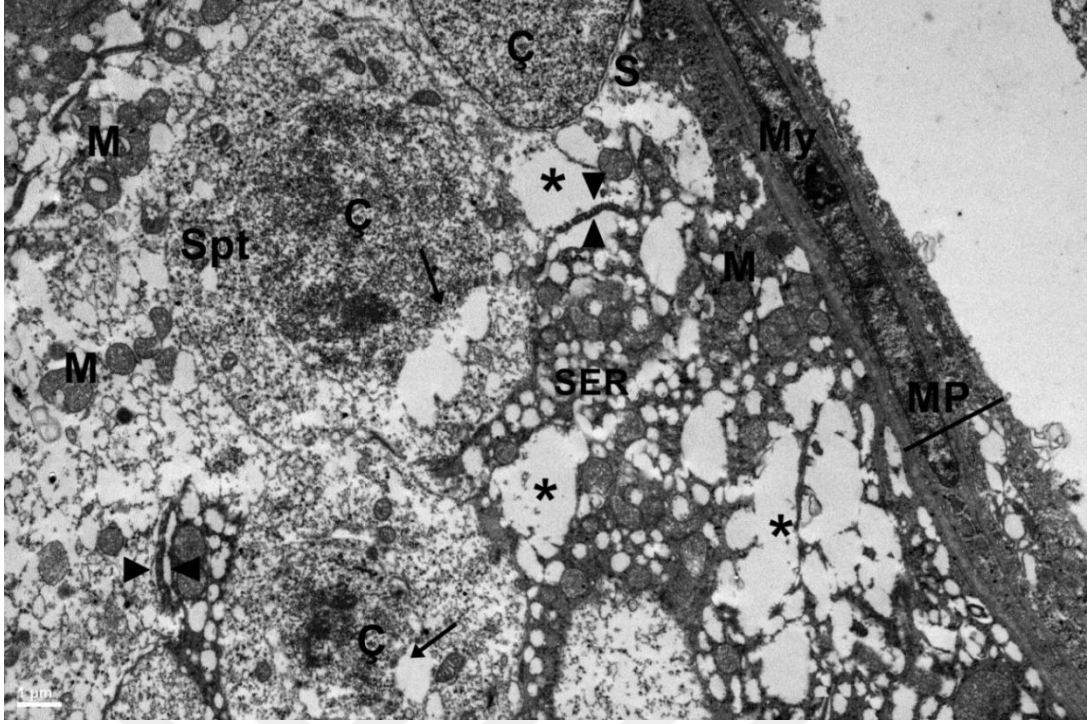
Resim 4. 19. Sağ testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü. İnterstisyumda yer alan mast hücrelerinin (MH) sitoplazmalarında çok sayıda elektron dens granüller (Gr) izlenmektedir. Çekirdek (Ç), Eozinofil (Eo) ve Kollajen lifler (Kol). Bar: 0,5 µm.



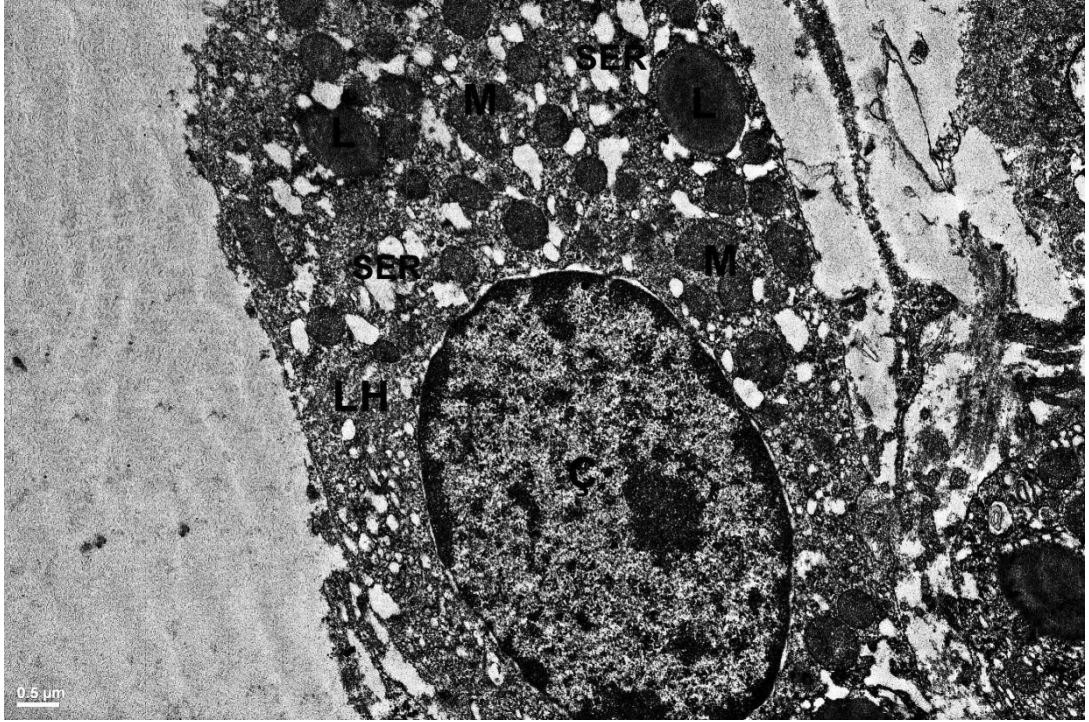
Resim 4. 20. Sağ testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü. İnteristisyumda yer alan Leydig hücrelerinin (LH) sitoplazmasında lipid damlacığı (L) sayısında azalma görülmektedir. Çekirdek (Ç), Makrofaj (Mak), Mitokondriyon (M) ve Fagositik cisimcik (Fg). Bar: 0,5 µm.



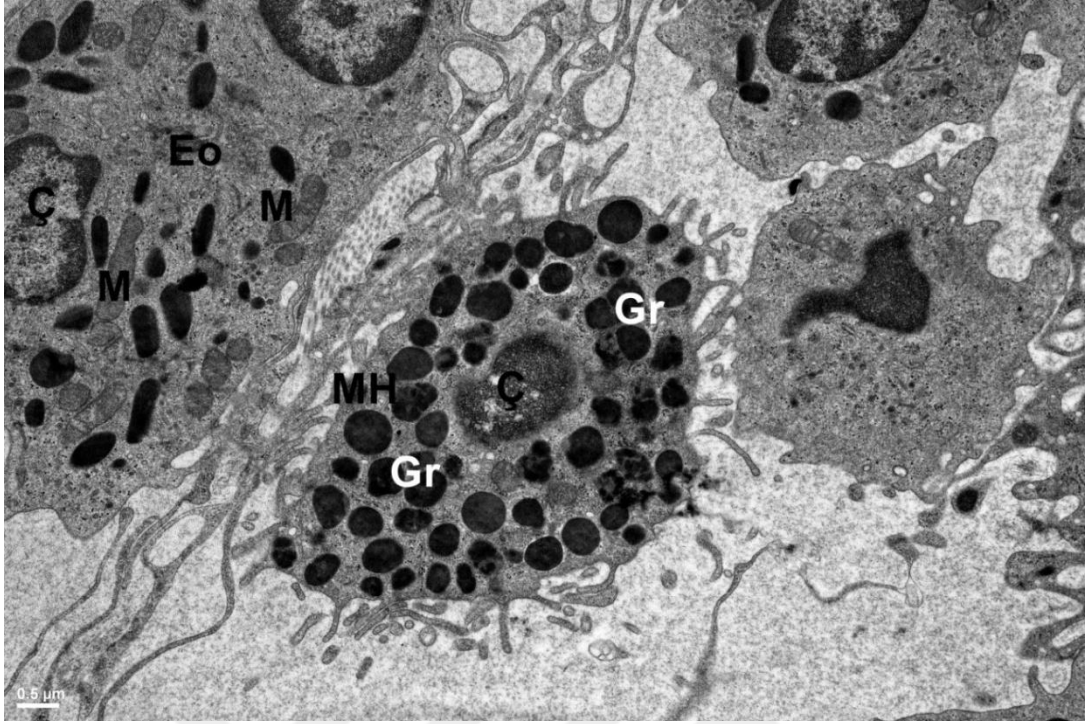
Resim 4. 21. Kriptorşid grubu Sol testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü. Membrana propria (MP) total kalınlığında artış ve tübül epitel hücreleri arasında dev boşluklar (*) ile çekirdek zarlarında çözünmeler (ok) izlenmektedir. Spermatosit (Spt) sitoplazmalarında organel harabiyeti ve otolitik değişiklikler ile çekirdek (Ç) membranlarında düzensizlikler görülmektedir. Elektron dens Sertoli hücre sitoplazmasında(S) yoğun agranüler endoplazmik retikulum (SER) vakuolizasyonu, anormal kristaya sahip mitokondriyonlar (M) izlenmektedir. Çekirdekçik (Çck) Miyoid hücre (My). Bar: 1 µm



Resim 4. 22. Sol testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü. Membrana propria (MP) total kalınlığında artış ve düzensizlik ile tübül epitel hücreleri arasında dev boşluklar (*) ile spermatozot (Spt) çekirdek (Ç) membranlarında çözünmeler (ok) izlenmektedir. Elektron dens Sertoli hücreleri (S) arasındaki sıkı bağlantılarda (ok başı) bozulma ve sitoplazmalarında agranüler endoplazmik retikulum (SER) vakuolizasyonu görülmektedir. Miyoid hücre (My), Mitokondriyon (M). Bar: 1 μ m.



Resim 4. 23. Sol testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü. İnteristisyumda yer alan Leydig hücrelerinin (LH) sitoplazmasında agranüler endoplazmik retikulum (SER) vakuolizasyonu ve lipid damlacığı (L) sayısında belirgin bir azalma görülmektedir. Çekirdek (Ç) ve Mitokondriyon (M). Bar: 0,5 μ m.



Resim 4. 24. Sol testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü. İnterstisyumda yer alan mast hücrelerinin (MH) sitoplazmalarında çok sayıda elektron dens granüller (Gr) izlenmektedir. Çekirdek (Ç), Eozinofil (Eo) ve Mitokondriyon (M). Bar: 0,5 µm.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kriptorşidizm erkek genital sisteminde en sık görülen konjenital anomalilerden biridir. Çocukların yaklaşık olarak %1'inde görülmektedir. Kriptorşidizmde multifaktöriyel etkenler rol almaktadır. Hormonal tedavilere göre 6-18 aylık dönemde yapılan operasyonların (orşidopeksi) daha iyi sonuç verdiği rapor edilmiştir. Palpe edilemeyen testislerin yönetiminde standart yaklaşım olarak %80-90 başarı oranı ile diagnostik laparoskopi tavsiye edilmektedir.

Normal testiküler inişin mekanizması yüzyıllar boyunca bilimin ilgi odaklarından biri olmuştur. Örneğin 1786'da Hunter insan fetüsünü diseke ettiğinde intra abdominal testisin inguino abdominal kanala bir ligament ile bağlandığını tanımlamış ve bu ligamente testis gubernakulumu adını vermiştir (1).

Kriptorşidizm; azalmış fertilitateye, testiküler maligniteye, testiküler torsiyon ve travmalara, yine bununla ilişkili inguinal hernilere veya psikolojik sorunlara yol açabildiğinden uzun yıllar boyunca klinik bir sorun olmuştur.

Sunulan çalışmada deney grubu ile kontrol grubundaki hayvanların ağırlıklarında bir fark bulunamadı. Bu bulgu kriptorşidizmin vücut gelişimini etkilemediğini göstermektedir. Ancak inmemiş (sol) testislerin, kontrol grubunun sol testislerinden daha hafif olması testisin inguinal kanalda kalmasının büyümesini olumsuz etkilediğini göstermektedir. Nitekim deney grubundaki hayvanların inmemiş (sol) testisleri, inmiş (sağ) testislerine göre de daha az gelişmişti.

Deney grubunda seminifer tübül çaplarının azalmış olması testislerdeki ağırlık kaybının seminifer tübüllerdeki değişikliklerle ilgili olabileceğini göstermektedir. Deney grubunda inmiş olan sağ testislerin seminifer tübülleri de daha az olmakla beraber etkilenmişti. Suskind ve arkadaşları (2007) 86 hastadan alınan testis biyopsi inceleme sonuçlarına göre; bir yaşından küçük çocuklarda seminifer tübül çapı 55 mikrometre tesbit edilirken, bir yaşından büyük çocuklarda ise 46 mikrometre olarak tesbit etmişlerdir. Aynı zamanda bir yaşından büyük çocuklarda germ hücre sayısında azalma gözlemişlerdir. Fibrozis derecesinin bir yaşından büyük çocuklarda önemli derecede arttığını gözlemlemişlerdir. araştırmacılar artmış fibrozis derecesinin, seminifer tübül çapının küçülmesi ile ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Muhtemelen fibrozis,

enflamatuar sürecin sonunda gelişen bir durumdur. Bu da inmemiş testisteki bozukluğun peritübüler inflammatuar süreci başlattığını desteklemektedir. Fibrozisin artması bazal membran kalınlaşmasına ve germ hücre sayısında azalmaya neden olmaktadır (79).

Bizim çalışmamızda da; kontrol grubunda sağ ve sol testis seminifer tübül ve lamina propria normal kalınlıkta ve yapıda gözlemlenirken kriptorşid grubunda özellikle sol testiste seminifer tübül çapında anlamlı bir azalma, germinal epitelde dejeneratif değişiklikler, ödem, konjesyon, bazal membrandan ayrılmalar ve hücrelerde vakuolizasyon gözlemlendi.

Kriptorşid grubunun sol testisinde interstisyel ve peritübüler alanda fibrozis artışı görüldü. Ayrıca kriptorşid grubunda sağ testiste de interstisyel alanda fibrozis artışı gözlemledik. Mast hücrelerin çoğunluğu interstisyel alanda ve tunika albuginea altında küçük damarların çevresinde ve Leydig hücrelerinin arasında gözlemlendi.

İnmemiş testislerde özellikle 1 yaşından sonra fibrozis geliştiği rapor edilmiştir. Fibrozis fonksiyonel parankim dokusu ile yer değiştirirken germ hücre sayısında da yaşa bağımlı olarak bir azalma görülmektedir (56).

Mast hücreleri fibroblastları aktive etmekte ve kollajen sentezini artırmaktadır. Triptaz mast hücreleri tarafından salgılanan, fibroblast proliferasyonunu ve kollajen sentezini artıran önemli moleküllerdendir. Mast hücrelerinin fibrozisi düzenlemesindeki diğer bir mekanizma ise matriks metalloproteinazlarının aktivasyonudur (2). Mast hücre enzimi olan triptaz artışı ile birlikte dekorin artışının olduğu gözlemlenmiş; bunun da büyüme faktörünün sinyal yollarını engelleyebileceği düşünülmüştür (57).

Belirli immün hastalıklar, bazı fizyolojik sebepler, çeşitli stresler, alkol kullanımı ve östrojen kullanımı gibi çeşitli endojen veya eksojen uyarılar mast hücre aktivasyonuna ve degranülasyonuna sebep olmaktadır (20,59, 60). Diğer taraftan nörotransmitterler, nöropeptidler ve hücre büyüme faktörleri mast hücre proliferasyonunu, degranülasyonunu ve sitokin salınımını indüklemektedir (75,76).

Mast hücre triptazının fibroblastlarda mitojen etki göstermesine ek olarak aynı zamanda ekstraselüler matriks proteinlerinin de artışına neden olabileceği ortaya konulmuştur (65).

Mast hücre ürünü olan triptaz tip 1 kollajen sentezini indüklemekte ve fibroblastları kollajen sentezi için harekete geçirmektedir (61,62). Aktive olan mast hücrelerinden

kaynaklanan triptaz, fibrozis etiyolojisinde kritik rol almaktadır (63). İnfertilitede, seminifer tübül duvarının kalınlaşmasındaki fibrotik süreci triptaz indüklemektedir.

Mast hücre triptazının mikrovasküler geçirgenliği, enflamatuar, hücre migrasyonunu ve sitokin salınımını etkilediği gösterilmiştir (64). Mast hücreleri indirekt bir şekilde enflamasyonda rol oynayıp gerek germ hücre hasarına gerekse seminifer tübül duvarında fibrozise neden olabilmektedir.

Literatür taramasında kriptorşidizm modelinde mast hücre ile fibrozis arasındaki ilişkiyi araştıran çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Biz de sıçanlarda tek taraflı kriptorşidizm modelini oluşturarak testiste meydana gelebilecek histopatolojik değişikliklere ve testiküler fibrozis ile mast hücreleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Açıkgöz ve arkadaşları tek taraflı kriptorşidizm oluşturdukları sıçanlarda, bir mast hücre blokörü olan ketotifenin etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada kriptorşidik testislerde seminifer tübül çaplarının daha küçük olduğunu, mast hücre sayılarının arttığını, bazal membran kalınlaşması olduğunu ve interstisyel fibrozisi gözlemlemişlerdir. Ayrıca mast hücre sayısı ile fibrozis arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (66). Mast hücre blokörü verilen grubun testisleri incelendiğinde, interstisyel bağ doku ve bazal membran kalınlığı inmemiş testislerde ergenlik öncesi dönemde normal kalınlıkta izlenmiştir. Spermatojenik aktivite, kontrol ve ketotifen verilmeyen gruba göre ketotifen verilen grupta daha iyi olduğu tesbit edilmiştir. Aynı zamanda ketotifen verilen grubun inmemiş testislerinde interstisyel ve subtübüler alandaki birim başına düşen mast hücre sayısında düşme gözlemlenmiştir.

Bizim çalışmamızda, tek taraflı kriptorşidizm oluşturulmuş grubun sol testis örneklerinde; lamina propriada artış ve seminifer tübül çaplarında ($p=0,001$) azalma, germinal epitelin bazal membrandan ayrılması, interstisyel alanda tübüllerin birbirinden ayrılması, hücreler arası alanda artış ve ödem gibi histopatolojik bulgular tespit edildi.

Seminifer tübül çapı ve epitel kalınlığındaki azalışın, germ hücrelerinin bazal membrandan ayrılması ve hücre sıralanmasının bozulması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda mast hücre sayısı ile peritübüler ve interstisyel alandaki fibrozis arasında pozitif yönlü bir korelasyon tesbit edildi. Bu bulgularımız daha önceki çalışmaları desteklemektedir (66).

Deneyisel torsiyon, otoimmün orşidli hastalıklar veya birçok infertile vakasında testislerde mast hücre sayısının artmış olması bu hücrelerin testis patolojisinde rol oynayabileceğini göstermektedir (36, 67). Rodriguez ve arkadaşları (2006), 720 derece deneyisel torsiyon oluşturdıkları 45-50 günlük Sprage Dawley sıçanlarda yapmış oldukları çalışmada, testiste enflamasyon, interstisyel ödem, germ hücrelerin dökülmesi ve seminifer tübül atrofisi gibi hasarların yanı sıra fibrotik ve nekrotik skar dokusu oluştuğunu da gözlemlemişlerdir. Buna ilaveten tüm gruplarda, tunika albuginia altında ve küçük damarların çevresinde toplanmış mast hücreleri bulunduğunu ve bu mast hücrelerinin torsiyon grubunda kontrol grubuna göre önemli miktarda fazla olduğunu rapor etmişlerdir (67).

Mast hücreleri indirek bir şekilde enflamasyonda rol oynayıp gerek germ hücre hasarına gerekse seminifer tübül duvarında fibrozise neden olabilmektedir (67).

Bizim çalışmamızda da tüm gruplarda, önceki çalışmalara (58,67) benzer şekilde mast hücreleri özellikle tunika albuginia altında, interstisyel alanda ve küçük damarların etrafında lokalize olmuşlardı. Ancak kriptorşid grubunda inmemiş sol testisin bu bölgelerindeki mast hücre sayısı kontrol grubuna göre daha fazla gözlemlendi. Ayrıca kriptorşid grubunda, interstisyel alanda perivasküler fibrozis, ödem, konjesyon ve hemoraji gözlemledik. Bunlarla birlikte, kriptorşid grubunda her iki testiste seminifer tübül çaplarında anlamlı bir azalma gözlemlendi.

Mast hücre sayısı ve fibrozis arasındaki ilişki farklı organlarda ve çeşitli patolojik durumlarda da gösterilmiştir. Kondo ve arkadaşları (2001), 70 glomerulonefritli hastadan alınan böbrek biyopsilerinde renal interstisyel fibrozisin, triptaz pozitif mast hücre sayısı ile korele olduğunu göstermişlerdir. Renal fibroblast kültürlerinde de triptazın, fibronektini ve tip 1 kollajeni artırdığı bildirilmiştir (65). Mast hücre triptazının renal fibrozise, ekstraselüler matriks proteinlerin sentezini ve renal interstisyel fibroblast sayısını artırarak yol açtığını ileri sürmüşlerdir (68).

Jezek ve arkadaşları idiyopatik infertilitesi ve azospermisi olan hastalardan alınan bilateral testiküler biyopsilerde mast hücre sayısının kontrol grubuna göre arttığını ve özellikle fibrozisin daha yoğun gözlemlendiği interstisyel alanlarda mast hücre sayısının daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir (58).

Meineke ve arkadaşları (2000) ağır hipospermatogenezisi ve germ hücre arresti olan infertil hastaların testiküler biyopsilerinde, tübüler duvardaki kalınlaşma ile testiküler

mast hücre sayıları arasında pozitif korelasyon saptamışlardır (36). Ayrıca literatürde infertil erkeklerde spermatogenezis defekti olan testislerde mast hücrelerin sayılarının belirgin olarak arttığı rapor edilmiştir (63,69,70). İnfertilitede, seminifer tübül duvarının kalınlaşmasında fibrotik süreci triptaz indüklemektedir (63).

Erkek infertilite tedavisinde mast hücre blokörleri olan ketotifen veya tranilast kullanımı araştırılmıştır (71). Fakat tranilastın ağır oligospermide kullanılması ile ilgili sadece bir placebo-kontrollü çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada sperm sayıları belirgin olarak artmıştır ve gebelik oranları da yükselmiştir (72). Matsuki ve arkadaşları (73), Hibi ve arkadaşları (74) çalışmalarında idiyopatik infertiliteli hastaların mast hücre blokörleri ile tedavi sonrasında %17-20 arasında spontan gebelikler ve semen parametrelerinde belirgin iyileşme saptamışlardır. Mast hücre blokörlerinin mast hücre degranülasyonunu inhibe ettiği de gözden uzak tutulmamalıdır.

Apa ve arkadaşları (2002) 33 normal ve bozulmuş spermatogenezisli testislerden elde edilen biyopsi örneklerini incelemişler ve her iki grupta da interstisyel alanda mast hücre sayısında artış olduğunu tespit etmişlerdir. Özellikle defektif spermatogenezis grubunda total mast hücre sayısı önemli derecede yüksek bulunmuştur. Skleroza uğrayan seminifer tübüllerin bulunduğu interstisyel alanda mast hücre sayısının daha fazla olduğu bildirilmiştir. Defektif spermatogenezis grubunda, interstisyel ve peritübüler mast hücreleri sayısının daha fazla arttığı saptanmıştır. Peritübüler alandaki mast hücre sayısındaki artış oranı interstisyel alandaki mast hücre sayısındaki artış oranından daha fazla bulunmuştur (77).

Bizim çalışmamızda kriptorşid grubunun sol testis dokularında peritübüler ve interstisyel alanda mast hücre sayısında artış gözlemlendi. Apa ve arkadaşlarının çalışmasından farklı olarak, interstisyel alandaki mast hücre sayısındaki artış, peritübüler alandaki mast hücre sayısındaki artıştan daha fazlaydı.

Yapılan çalışmalarda, erkek infertilitesinde mast hücrelerinin arttığı rapor edilmiş ve bunun kan-testis bariyeri disfonksiyonu ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (55,58,78).

Kriptorşid grubu sağ testis ince yapı düzeyinde incelendiğinde; bazal lamina üzerinde yer alan sferikal ve merkezi yerleşimli çekirdeğe sahip spermatogonyumların sitoplazmaları büzüşmüştü. Seminifer tübül epitel hücreleri arasında, birbirlerine sitoplazmik köprülerle bağlı normal elektron densiteye sahip spermatositlerin çekirdek zarlarında da yer yer düzensizlikler izlendi. Sitoplazmaları ise normal yapıda olup

gruplaşmış mitokondriyonlar, mikrotübüller, ER sisternaları sergilemekteydi. Spermatojenik hücreler arasında sitoplazmik köprüler bütünlüklerini korumaktaydı. İnterstisyumda fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri, kan ve lenf damarlarının yanı sıra steroid hormon sentezinden sorumlu Leydig hücreleri de bulunmaktaydı. Düzensiz sınırlı çekirdeğe sahip Leydig hücrelerinin sitoplazmalarında, normal yapıda tübüler kristal mitokondriyonlar bulunmakla birlikte, lipid damlacığı sayısında azalma dikkat çekti. İnterstisyumdaki mast hücreleri özellikle kan damarlarına yakın yerleşim göstermekteydi. Merkezi yerleşimli çekirdeğe sahip olan bu hücrelerin sitoplazmalarında çok sayıda elektron dens granüller izlendi.

Kriptorşid grubu sol inmemiş testisin ince yapı düzeyinde değerlendirilmesinde, seminiferöz tübül ve insterstisyumda şiddetli dejeneratif değişiklikler görüldü. Bazal lamina ve miyoid hücrelerden oluşan membrana propria total kalınlığının belirgin şekilde arttığı ve düzensiz bir hal aldığı belirlendi. Miyoid hücre sitoplazmalarındaki mikropinositotik veziküllerin dens hale geldiği izlendi. Spermatojenik hücre sayısındaki azalmaya paralel olarak, tübül epitelinde düzensiz geniş boşluklar gözlemlendi. Sertoli-Sertoli hücreleri ve Sertoli-spermatojenik hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar ile spermatojenik hücrelerin kendi aralarındaki sitoplazmik köprüler bütünlüğünü yitirmişti. Bazal lamina üzerinde sferikal ve merkezi yerleşimli çekirdeğe sahip spermatogonyumlar büzüşmüş ve çevrelerinde düzensiz boşluklar oluşmuştu. Sinaptonemal kompleks varlığıyla karakterize çekirdeğe sahip spermatositlerin çekirdek membranında ayrışma ve çözünmeler ile sitoplazmalarında vakuolizasyon ve dejenere mitokondriyonların varlığı dikkat çekti. Normal elektron densiteye sahip Leydig hücrelerinde, düzensiz sınırlı çekirdek periferik kromatin sergilemekteydi. Sitoplazma, azalmış lipid damlacıkları ve SER vakuolizasyonu ile normal görünümde mitokondriyonlar içermekteydi. İnterstisyumda merkezi yerleşimli çekirdeğe sahip mast hücrelerinin sitoplazmalarında ise çok sayıda elektron dens granüller bulunmaktaydı. Mast hücreleri, makrofajlar başta olmak üzere diğer bağ doku hücreleri ile yakın konumda yer almaktaydı. Elektron mikroskobundaki bulgular ışık mikroskobik bulgularımız ile uyumluydu.

Yamanaka ve arkadaşları araştırmalarında sklerozis ve fibrozis indeksi ile mast hücrelerin sayısının artışı arasında belirgin bir korelasyon olduğunu saptamışlardır (55). Farklı yaş gruplarına ait 78 kriptorşidik hastadan alınan testis biyopsilerini inceleyen Mechlin ve arkadaşları (2013) ise mast hücrelerin sayısının fibrotik indeks ile negatif

korelasyon gösterdiğini gözlemlemiştir. Genç hastalarda mast hücre sayısını fibrozisin minimal olduğu alanda en fazla olduğunu bildirmişlerdir. Yetişkinlerde ise interstisyel alanda damarların etrafında az miktarda ve peritübüler alanda mast hücrelerinin varlığını rapor etmişlerdir (80). Mechlin ve arkadaşlarının bu çalışması literatürde mast hücre fibrozis ilişkisini gösteren birçok çalışma ile çelişmektedir.

Sunulan çalışmada ise; fibrozisin fazla olduğu interstisyel ve peritübüler alanda mast hücre sayısı ile pozitif yönde bir korelasyon olduğu tesbit edildi. Ayrıca mast hücre sayısının en fazla olduğu alanın ise tunika albuginea altındaki damarların etrafı olduğu belirlendi.

Sonuç:

Çalışmamızda, inmemiş testislerde büyüme geriliği gözlemlendi. Kriptorşid grubunda ve özellikle inmemiş testislerde mast hücre sayısının tunika albuginea altındaki damarların çevresinde ve interstisyel alanda arttığını tesbit ettik. Bu testislerde fibrozisin de artmış olması, bize mast hücre artışının fibrozis ile ilişkili olduğunu düşündürdü. Artmış fibrozisin seminifer tübül çaplarında azalmaya bazal membranda kalınlaşmaya ve spermatojenik aktivitede bozulmaya neden olduğunu düşündürmektedir. Bu da bize artmış mast hücre sayısının infertilite ile de yakından ilişkili olabileceğine işaret etmektedir. Kriptorşid grubunun inmiş sağ testislerindeki fibrozisin, inmemiş sol testislerdeki fibrozis artışı kadar olmasa da kontrol grubuna göre artmış olması, fibrozis sürecine verilen sistemik enflamatuvar yanıt ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Kriptorşidizmin, inmiş testisleri de etkileyerek, dejeneratif değişikliklere nasıl yol açtığının anlaşılabilmesi için fibrozis sürecinin sistemik yollarını araştıran daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Braga, L.H. and A.J. Lorenzo, Cryptorchidism: A practical review for all community healthcare providers. *Can Urol Assoc J*, 2017. 11(1-2Suppl1): p. S26-s32
2. Kimata, M., et al., Production of matrix metalloproteinases in human cultured mast cells: involvement of protein kinase C-mitogen activated protein kinase kinase extracellular signal-regulated kinase pathway. *Allergol Int*, 2006. 55(1):p. 67-76
3. Saladin, K.S., *Human Anatomy* 2008, Published by McGraw-Hill: Americas, New York.
4. Hall, G.a., *Textbook of Medical Physiology*. 2011 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc., 2011. Twelfth Edition.
5. Ross, M.H., *Histology (A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biolog)*. Library of Congress Cataloging-in publication, 2011. Sixth Edition.
6. Moore, K.L., *The Developing Human. (Clinically Oriented Embryology)*. Copyright © 2016 by Elsevier, 2016. 10th Edition (1600 John F.Kennedy Blvd.Ste 1800 Philadelphia).
7. Eşrefoğlu, P.D.M., *Özel Histoloji*. 2016 İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık Hiz Tic. Ltd. Şti., 2016. Second Edition.
8. Mescher, A.L., *Junqueira's Basic Histology Text And Atlas*. Copyright © 2013 by McGraw-Hill Education, 2013. Thirteenth Edition.
9. <https://www.dicle.edu.tr/Contents/01baef8f-7b2e-4395-afc0-3132c45538c9.pdf> Erkek Genital histolojisi 2018.
10. Bloom, G.D., A short history of the mast cell. *Acta Otolaryngol Suppl*, 1984. 414: p. 87-92.
11. Galli SJ, A.M. Dvorak, and H.F. Dvorak, Basophils and mast cells: morphologic insights into their biology, secretory patterns, and function. *Prog Allergy*, 1984. 34: p. 1-141.
12. Brower, G.L., et al., Cause and effect relationship between myocardial mast cell number and matrix metalloproteinase activity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002. 283(2): p. H518-25.

13. Artico, M., et al., Nerve fibers mast cells correlation in the rat parietal pleura. *Respir Physiol*, 1998. 113(2): p. 181-8.
14. Marshall, J.S., Mast-cell responses to pathogens. *Nat Rev Immunol*, 2004. 4(10): p 787-99.
15. He, S.H., Key role of mast cells and their major secretory products in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*, 2004. 10(3): p. 309-18.
16. Metzger, H., The high affinity receptor for IgE on mast cells. *Clin Exp Allergy*, 1991. 21(3): p. 269-79.
17. Gilfillan, A.M. and M.A. Beaven, Regulation of mast cell responses in health disease. *Crit Rev Immunol*, 2011. 31(6): p. 475-529.
18. Harvima, I.T. and G. Nilsson, Mast cells as regulators of skin inflammation and immunity. *Acta Derm Venereol*, 2011. 91(6): p. 644-50.
19. Crowle, P.K. and N.D. Reed, Bone marrow origin of mucosal mast cells. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1984. 73(3): p. 242-7.
20. Galli, S.J., New insights into "the riddle of the mast cells": microenvironmental regulation of mast cell development and phenotypic heterogeneity. *Lab Invest*, 1990.62(1): p. 5-33.
21. Befus, D., et al., Mast cell heterogeneity in man. I. Histologic studies of the intestine. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1985. 76(3): p. 232-6.
22. Penissi, A.B., M.I. Rudolph, and R.S. Piezzi, Role of mast cells in gastrointestinal mucosal defense. *Biocell*, 2003. 27(2): p. 163-72.
23. Hunt, T.C., et al., Structural and secretory characteristics of bovine lung and skin mast cells: evidence for the existence of heterogeneity. *Clin Exp Allergy*, 1991. 21(2): p. 173-82.
24. Huntley, J.F., Mast cells and basophils: a review of their heterogeneity and function. *J Comp Pathol*, 1992. 107(4): p. 349-72.
25. Pearce, F.L., On the heterogeneity of mast cells. *Pharmacology*, 1986. 32(2): p. 61-71.
26. Anand, P., et al., Mast cells: an expanding pathophysiological role from allergy to other disorders. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2012. 385(7): p. 657-70.
27. Lutzelschwab, C., et al., Secretory granule proteases in rat mast cells. Cloning of 10 different serine proteases and a carboxypeptidase A from various rat mast cell populations. *J Exp Med*, 1997. 185(1): p. 13-29.

28. Metcalfe, D.D., D. Baram, and Y.A. Mekori, Mast cells. *Physiol Rev*, 1997. 77(4): 1033-79.
29. Welle, M., Development, significance, and heterogeneity of mast cells with particular regard to the mast cell-specific proteases chymase and tryptase. *J Leukoc Biol*, 1997. 61(3): p. 233-45.
30. Caughey, G.H., Mast cell proteases as protective and inflammatory mediators. *Adv Exp Med Biol*, 2011. 716: p. 212-34.
31. Theoharides, T.C., D. Kempuraj, and G.R. Sant, Mast cell involvement in interstitial cystitis: a review of human and experimental evidence. *Urology*, 2001. 57(6 Suppl 1): p. 47-55.
32. Maurer, M., et al., What is the physiological function of mast cells? *Exp Dermatol*, 2003. 12(6): p. 886-910.
33. Algermissen, B., et al., Mast cell chymase and tryptase during tissue turnover: analysis on in vitro mitogenesis of fibroblasts and keratinocytes and alterations in cutaneous scars. *Exp Dermatol*, 1999. 8(3): p. 193-8.
34. Ruoss, S.J., T. Hartmann, and G.H. Caughey, Mast cell tryptase is a mitogen for cultured fibroblasts. *J Clin Invest*, 1991. 88(2): p. 493-9.
35. Takeshita, K., et al., Increased expression of plasminogen activator inhibitor-1 in cardiomyocytes contributes to cardiac fibrosis after myocardial infarction. *Am J Pathol*, 2004. 164(2): p. 449-56.
36. Meineke, V., et al., Human testicular mast cells contain tryptase: increased mast cell number and altered distribution in the testes of infertile men. *Fertil Steril*, 2000. 74(2): p. 239-44.
37. Hjertkvist, M., J.E. Damber, and A. Bergh, Cryptorchidism: a registry based study in Sweden on some factors of possible aetiological importance. *J Epidemiol Community Health*, 1989. 43(4): p. 324-9.
38. Glassberg, K.I., American Academy of Pediatrics. Annual meeting of the Section on Pediatric Urology. Summary of the meeting, Nov 1-3, 1986. *Pediatrics*, 1988. 81 (4) : p. 588-94.
39. Thorup, J., et al., What is new in cryptorchidism and hypospadias--a critical review on the testicular dysgenesis hypothesis. *J Pediatr Surg*, 2010. 45(10): p. 2074-86.

40. Toppari, J., et al., Cryptorchidism and hypospadias as a sign of testicular dysgenesis syndrome (TDS): environmental connection. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2010. 88(10): p. 910-9.
41. Anderson, G.F. and P. Smey, Current concepts in the management of common urologic problems in infants and children. *Pediatr Clin North Am*, 1985. 32(5): p. 1133-49.
42. Sepulveda, X. and P.L. Egana, Current management of non-palpable testes: a literature review and clinical results. *Transl Pediatr*, 2016. 5(4): p. 233-239.
43. Sirvent, J.J., et al., Postpubertal cryptorchism. Morphofunctional study with special reference to Leydig's cells. *Eur Urol*, 1989. 16(6): p. 433-9.
44. Fonkalsrud, E.W., Testicular undescend and torsion. *Pediatr Clin North Am*, 1987. 34(5): p. 1305-17.
45. Christiansen, P., et al., [Cryptorchism. Treatment with human chorionic gonadotropin or gonadotropin-releasing hormone?]. *Ugeskr Laeger*, 1993. 155(41): p. 3287-90.
46. Adamsen, S., S. Aronson, and B. Borjesson, Prospective evaluation of human chorionic gonadotropin in the treatment of cryptorchidism. *Acta Chir Scand*, 1989. 155 (10) : p. 509-14.
47. Puri, P. and A. Sparnon, Relationship of primary site of testis to final testicular size in cryptorchid patients. *Br J Urol*, 1990. 66(2): p. 208-10.
48. Elder, J.S., The undescended testis. Hormonal and surgical management. *Surg Clin North Am*, 1988. 68(5): p. 983-1005.
49. Giwercman, A., J. Muller, and N.E. Skakkeboek, Cryptorchidism and testicular neoplasia. *Horm Res*, 1988. 30(4-5): p. 157-63.
50. Grasso, C., et al., Subfertility and Risk of Testicular Cancer in the EPSAM Case- Control Study. *PLoS One*, 2016. 11(12): p. e0169174.
51. Gill, B. and S. Kogan, Cryptorchidism. Current concepts. *Pediatr Clin North Am*, 1997. 44(5): p. 1211-27.
52. Hesse, V. and G. Fischer, Three injections of human chorionic gonadotropin are as effective as ten injections in the treatment of cryptorchidism. *Horm Res*, 1988. 30(4-5): p. 193-7.
53. Hadziselimovic, F., et al., Effect of LH-RH treatment on hypothalamo-pituitary-gonadal axis and Leydig cell ultrastructure in cryptorchid boys. *Horm Res*, 198013(6): p. 358-66.

54. Labady, F., P. Lepies, and K. Cinovsky, On the psychopathology of patients with disorders in the descent of the testis. *Int Urol Nephrol*, 1988. 20(6): p. 647-55.
55. Yamanaka, K., et al., Significance of human testicular mast cells and their subtypes in male infertility. *Hum Reprod*, 2000. 15(7): p. 1543-7.
56. Mechlin, C.W., et al., Mast cell numbers negatively correlate with fibrosis in cryptorchid testes. *J Pediatr Urol*, 2014. 10(3): p. 527-31.
57. Adam, M., et al., Mast cell tryptase stimulates production of decorin by human testicular peritubular cells: possible role of decorin in male infertility by interfering with growth factor signaling. *Hum Reprod*, 2011. 26(10): p. 2613-25.
58. Jezek, D., et al., Mast cells in testicular biopsies of infertile men with 'mixed atrophy' of seminiferous tubules. *Andrologia*, 1999. 31(4): p. 203-10.
59. Tuncel, N., et al., The effect of vasoactive intestinal peptide (VIP) on mast cell invasion/degranulation in testicular interstitium of immobilized + cold stressed and beta-endorphin-treated rats. *Peptides*, 1996. 17(5): p. 817-24.
60. Nistal, M., et al., Changes in the connective tissue and decrease in the number of mast cells in the testes of men with alcoholic and non-alcoholic cirrhosis. *Acta Morphol Hung*, 1986. 34(1-2): p. 107-15.
61. Cairns, J.A. and A.F. Walls, Mast cell tryptase stimulates the synthesis of type I collagen in human lung fibroblasts. *J Clin Invest*, 1997. 99(6): p. 1313-21.
62. Abe, M., et al., Mast cell tryptase stimulates both human dermal fibroblast proliferation and type I collagen production. *Clin Exp Allergy*, 1998. 28(12): p. 1509-17.
63. Gruber, B.L., et al., Human mast cells activate fibroblasts: tryptase is a fibrogenic factor stimulating collagen messenger ribonucleic acid synthesis and fibroblast chemotaxis. *J Immunol*, 1997. 158(5): p. 2310-7.
64. He, S., Q. Peng, and A.F. Walls, Potent induction of a neutrophil and eosinophil-rich infiltrate in vivo by human mast cell tryptase: selective enhancement of eosinophil recruitment by histamine. *J Immunol*, 1997. 159(12): p. 6216-25.
65. Kondo, S., et al., Role of mast cell tryptase in renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol*, 2001. 12(8): p. 1668-76.
66. Açıkgöz, A., et al., The role of ketotifen in the prevention of testicular damage in rats with experimental unilateral undescended testes. *Drug Des Devel Ther*, 2014. 8: p. 2089-97.

67. Rodriguez, M.G., et al., Immunohistopathology of the contralateral testis of rats undergoing experimental torsion of the spermatic cord. *Asian J Androl*, 2006. 8(5): p. 576-83.
68. Strutz, F., Novel aspects of renal fibrogenesis. *Nephrol Dial Transplant*, 1995. 10(9): p. 1526-32.
69. Maseki, Y., et al., Mastocytosis occurring in the testes from patients with idiopathic male infertility. *Fertil Steril*, 1981. 36(6): p. 814-7.
70. Nagai, T., et al., Testicular mast cell heterogeneity in idiopathic male infertility *Fertil Steril*, 1992. 57(6): p. 1331-6.
71. Schill, W.B., J. Schneider, and J. Ring, The use of ketotifen, a mast cell blocker, for treatment of oligo- and asthenozoospermia. *Andrologia*, 1986. 18(6): p. 570-3.
72. Yamamoto, M., H. Hibi, and K. Miyake, New treatment of idiopathic severe oligozoospermia with mast cell blocker: results of a single-blind study. *Fertil Steril* 1995. 64(6): p. 1221-3.
73. Matsuki, S., et al., The use of ebastine, a mast cell blocker, for treatment of oligozoospermia. *Arch Androl*, 2000. 44(2): p. 129-32.
74. Hibi, H., et al., The treatment with tranilast, a mast cell blocker, for idiopathic oligozoospermia. *Arch Androl*, 2001. 47(2): p. 107-11.
75. Aloe, L. and R. Levi-Montalcini, Mast cells increase in tissues of neonatal rats injected with the nerve growth factor. *Brain Res*, 1977. 133(2): p. 358-66.
76. Ansel, J.C., et al., Substance P selectively activates TNF-alpha gene expression in murine mast cells. *J Immunol*, 1993. 150(10): p. 4478-85.
77. Apa, D.D., et al., Mast cells and fibrosis on testicular biopsies in male infertility. *Arch Androl*, 2002. 48(5): p. 337-44.
78. Gaytan, F., et al., Mast cells in the testis, epididymis and accessory glands of the rat effects of neonatal steroid treatment. *J Androl*, 1989. 10(5): p. 351-8.
79. Suskind, A., et al., Fibrosis correlates with detailed histological analysis of human undescended testes. *BJU Int*, 2008. 101(11): p. 1441-5.
80. Mechlin, C.W., et al., Mast cell numbers negatively correlate with fibrosis in cryptorchid testes. *J Pediatr Urol*, 2014. 10(3): p. 527-31

EKLER



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
UNIVERSITY OF GAZİANTEP
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI
LOCAL ETHICS COMMITTEE OF ANIMAL EXPERIMENTS
ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI
RESEARCH APPLICATION CONSENT



TOPLANTI TARİHİ (Meeting Date)	TOPLANTI SAYISI (Meeting No)	TOPLANTI YERİ (Meeting Place)
05.04.2017	4	Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

BAŞVURU BİLGİLERİ Application Information	Araştırmanın Başlığı Research Title	Deneysel Tek Taraflı Kriptorşidizimli Sıçanlarda Testiküler Mast Hücreleri ve Fibrozisin Araştırılması
	Başvuru Tarihi Application Date	06.03.2017
	Protokol no Protocol no	24

KARAR BİLGİLERİ Decision	Karar No: 2017/8 Decision No: 2017/8
	☒ Kabul (Accepted) ☐ Red (Not Accepted) Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ'nün yürütücüsü olduğu ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, başvurunun "uygun" olduğuna toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.

Yürütücü Coordinator	Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı
-------------------------	--

ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU YÖNERGESİ

Ünvanı/Adı/Soyadı	Kurumu	İlişki	Katılım	İmza
Prof. Dr. A. Tuncay Demiryürek (Başkan)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	H	H	KATILMADI
Yrd. Doç. Dr. Davut Sinan Kaplan (Başkan Yardımcısı)	GAÜN Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	H	E	
Prof. Dr. Behçet Al (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Acil Tıp AD.	H	E	
Doç. Dr. İbrahim Halil Kılıç (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat F. Biyoloji	H	H	KATILMADI
Doç. Dr. Mehmet Kahraman (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat F. Kimya	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Ebru Deniz Karşlı (Üye)	GAÜN Diş Hekimliği F. Çene Cerrahisi AD.	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Berna Kaya Uğur (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon AD	H	E	
Öğr. Gör. Ahmet Sarper Bozkurt (Üye)	GAÜN Teknik Bilimler MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim	H	E	
Veteriner Hekim Celal Özsöyler (Üye)	Gaziantep Büyükşehir Belediyesi Hayvanat Bahçesi	H	E	
Tekniker Ahmet Özkul (Üye)	Serbest, Dernek Üyesi	H	E	

E: Evet, H: Hayır

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Ad soyadı	İskender DURAN
Cinsiyet	Erkek
Doğum Tarihi	01.02.1985
Medeni Durum	Evli
Memleket	Mardin
Uyruk	TC
Sürücü Belgesi	Var (B tipi)
Kan Grubu	B Rh (+)
Askerlik Durumu	Yaptı

İLETİŞİM BİLGİLERİ	
Adres Bilgileri	Şahin Tepe Mah.374.Sok.Zeugma Sitesi Kat 1 No:4
İl/İlçe	Şahinbey
Cep Telefonu	05427339060
E-Posta	Izare_47@hotmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ	
2000-2004	BATMAN ANADOLU LİSESİ
2006-2011	MUĞLA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK YÜKSEK OKULU
2016-2019	GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEMEL TIP BİLİMLERİ HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ABD