

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MEDULLA SPİNALİS YARALANMASININ TESTİS İNCE YAPISINA ETKİSİ

Feray FARSAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI

Prof.Dr.Mehmet KAYA

ADANA-2011

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MEDULLA SPİNALİS YARALANMASININ TESTİS İNCE YAPISINA ETKİSİ

Feray FARSAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI

Prof.Dr.Mehmet KAYA

**Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
Desteklenmiştir.**

Tez No: TF2009YL23

ADANA-2011

TEŞEKKÜR

Tez konumun seçiminde, çalışmaların yürütülmesinde, değerlendirilmesinde ve yorumlanmasında bana daima destek olan Danışman Hocam Sayın Prof.Dr.Mehmet Kaya'ya saygı ve şükranlarımı sunarım. Ayrıca tez çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalımız Öğretim Üyelerine de teşekkür ederim.

Deneylerimin cerrahi işlemlerini gerçekleştiren Nöroşirürji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr.Derviş Mansuri Yılmaz'a ve Araştırma Görevlisi Dr.Serkan Diril'e teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca tez çalışmalarım sırasında bana daima destek olan Anabilim Dalımız Araştırma Görevlileri ve idari personeline de teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca daima benim yanımda olan, bugünlere gelmemi sağlayan, her zaman destek ve yardımlarını esirgemeyen annem ile babama ve sevgili kardeşlerime de sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	
ÖNSÖZ ve/veya TEŞEKKÜRLER	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLolar VE ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1. Testis histolojisi	3
2.1.1. Membrana propria	4
2.1.1.1. – İç hücresel olmayan tabaka	4
2.1.1.2. – İç hücresel tabaka	4
2.1.1.3. – Dış hücresel olmayan tabaka	4
2.1.1.4. – Dış hücresel tabaka	4
2.1.2. Seminiferöz epitel	4
2.1.2.A. Sertoli Hücreleri	5
2.1.2.B. Spermatogenik Hücreler	6
2.1.3. Spermin yapısı	8
2.1.4. İnterstisyel Doku ve Leydig Hücreleri	8
2.1.5. Testis fonksiyonları	9
3. GEREÇ VE YÖNTEM	10
3.1. Kullanılan Deney Hayvanları ve Hayvan Bakımı	10
3.2. Deneyin yapılışı	10
4. BULGULAR	13
4.1. Kontrol Grubu Testis İnce Yapısı	13
4.2. Medulla Spinalis Yaralanmasına Maruz Bırakılmış Sıçan Testislerinin İnce Yapısı	14
4.3. Kan/Hormon Analizi	17
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	47

7. KAYNAKLAR	49
8. ÖZGEÇMİŞ	53

TABLolar VE ŞEKİLLER DİZİNİ

Tablo 1. Medulla spinalis yaralanması sonrasında serum testosteron değerleri.

Tablo 2. Medulla spinalis yaralanması sonrasında serum LH değerleri.

Tablo 3. Medulla spinalis yaralanması sonrasında serum FSH değerleri.

Şekil 1. Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 2. Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 3. Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 4. Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 5. MSY' den 1 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 7. MSY' den 1 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 8. MSY' den 3 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 9. MSY' den 3 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 10. MSY' den 3 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 11. MSY' den 7 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 12. MSY' den 7 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 13. MSY' den 7 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 14. MSY' den 7 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 15. MSY' den 14 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 16. MSY' den 14 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 17. MSY' den 14 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 18. MSY' den 28 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 19. MSY' den 28 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 20. MSY' den 28 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

Şekil 21. MSY' den 28 gün sonrasına ait elektron mikroskopik görüntü.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABP	Androjen Bağlayıcı Protein
FSH	Folikül Stimulan Hormon
AMH	Anti-Müllerian Hormon
LH	Luteinizan Hormon
ICSH	İnterstisyel Hücre Stimüle Edici Hormon
GnRH	Gonadotropin Tetikleyici Hormon

ÖZET

Medulla Spinalis Yaralanmasının Testis İnce Yapısına Etkisi

Medulla spinalis yaralanması ile testiküler atrofi ve spermatogenezin bozulması üzerine yapılan araştırmaların günümüzde hala çok yetersiz olduğu görülmektedir. Bu çalışmada torakal düzeyde oluşturulan medulla spinalis kesisinin testis üzerine olası etkilerinin elektron mikroskopik düzeyde araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda 250-300 gram ağırlığında 30 yetişkin Wistar türü erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar her bir grupta 5 hayvan olmak üzere 6 gruba ayrıldı. 1. grubu oluşturan 5 hayvana herhangi bir cerrahi işlem uygulanmadı ve bu hayvanlar kontrol grubu olarak değerlendirildi. Geriye kalan 25 hayvanda ise torakal 7-9 seviyelerinde medulla spinalis transeksiyonu yapıldı. Yaralanma sonrası tabakalar kapatıldı ve kontrol grubu da dahil, tüm gruplardaki hayvanlar aynı ortam şartlarında yaşatıldı. Operasyonu takiben 2, 3, 4, 5 ve 6. grupları oluşturan sıçanlardan sırası ile 1, 3, 7, 14 ve 28 gün sonra testisler alındı. Ayrıca hayvanlardan hormon analizi için kan örnekleri de alındı. Elde edilen testis doku örnekleri rutin elektron mikroskopik doku takip yöntemleri ile hazırlandı. Alınan ince kesitler Jeol JEM-1400 elektron mikroskobu ile incelendi.

Medulla spinalis kesisinden 1 gün sonra elde edilen testis dokularının incelenmesinde belirgin bir yapısal değişiklik görülmedi. 3. günde Sertoli hücrelerinin sitoplazmasında hafif vakuolizasyon, lipofuksin granülleri ve iri lipid damlacıkları gözlemlendi. Ayrıca Leydig hücrelerinde agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarında genişlemeye bağlı vakuolizasyon izlendi. Kesiden 7 gün sonra membrana propria duvarında kalınlaşma, bazal laminanın ondüleli bir şekil alması, kollajen lif miktarında artma, Sertoli hücrelerinde agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarında genişleme, lipid damlacıklarında artma ve sitoplazmada litik alanların oluştuğu izlendi. Spermatogoniumların aralarında geniş boşluklar ve bazı spermatidlerde dejeneratif akrozomal değişiklikler de görüldü. Kesiden 14 ve 28 gün sonra alınan testislerde, Sertoli hücrelerinde çekirdekte piknotik değişiklikler, sitoplazmada ileri derecede vakuolizasyon ve lizis, spermatidlerde yapısal bozukluklar, membrana propriada ondüleli şekil alma ve kollajen liflerde artış gibi dejeneratif değişikliklerin belirgin olarak arttığı dikkati çekmekteydi.

Sonuç olarak bu çalışmada, torakal seviyedeki medulla spinalis kesisi sonucu testis ultrastrüktürel düzeyde incelenmiş ve oluşan yapısal dejenerasyonlar ayrıntılı olarak gösterilmiştir. Medulla spinalis kesisinin spermatogenez üzerindeki akut etkisinin hormon eksikliğine bağlı olabileceği, kesinin kronik fazı boyunca gözlenen anormal spermatogenez ve seminiferöz epitel gerilemesinin altında daha çok nörojenik mekanizmaların yattığı düşünülmektedir. Fertiliteyi olumsuz yönde etkileyen testiküler dejenerasyonların, medulla spinaliste oluşan nörolojik

hasarlardan kaynaklanabileceği, dolayısıyla nöral-hipotalamik-testiküler bir yolun varlığını düşündürdüğünü ancak bu konuda daha ileri çalışmaların yapılması gerektiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Testis, Medulla spinalis, Transeksiyon, Ultrastrüktür

ABSTRACT

Effect of spinal cord injury on the testis ultrastructure

The relationship between spinal cord injury and testicular atrophy and impairment of spermatogenesis is still not fully known. The present study was carried out in order to obtain ultrastructural effects of thoracic spinal cord injury on the testis.

Thirty adult male Wistar rats weighing between 250 and 300 g were used. Animals were divided into 6 groups each containing 5 animals. The first group was used as intact control group. The remaining 25 rats underwent spinal cord injury at thoracic 7-9 levels. After the operation, the incision was sutured and the animals were kept under standard conditions. Testicular tissues were taken from rats of 2th, 3th, 4th, 5th, 6th groups respectively on the 1th, 3th, 7th, 14th and 28th days following the operation. Also blood samples were obtained for hormone analysis. Testicular tissue pieces were processed for electron microscopy and examined with Jeol JEM-1400 transmission electron microscope.

Electron microscopic examination of the testis from 1 day after operation revealed normal ultrastructure. After 3 days, Sertoli cells exhibited dilated smooth endoplasmic reticulum cisternae, abundant lipid droplets and lipofuscin granules. Most of the Leydig cells also contained dilated smooth endoplasmic reticulum cisternae forming variously sized vacuoles. Interesting ultrastructural changes were observed in testicular tissue on the 7th day. Abundant lipid droplets, dilated smooth endoplasmic reticulum cisternae and cytoplasmic lytic areas were encountered in Sertoli cells. Furthermore, enlargement of intercellular area between the spermatogonia, abnormal acrosome formation of the spermatids and thickened membrana propria were also observed. On the other hand, the most prominent fine structural alterations were seen on the 14th and 28th days. Most of the Sertoli cells revealed pyknotic nuclei, abundant lipid droplets and numerous electron dense bodies and variously sized vacuoles. Moreover, many of the tubules exhibit abnormal spermatids and alterations of the membrana propria include undulated basal lamina and excessive collagen fibers.

Testicular ultrastructural changes in the thoracic 7-9 level of spinal cord injury have been documented in detail in this study. It is widely accepted that the acute effect of spinal cord injury on the spermatogenesis is due to hormone deprivation, whereas neurogenic mechanisms affect atrophy of seminiferous tubules and abnormal spermatogenesis during the chronic phase of the injury. These ultrastructural alterations can lead to impairment of fertility that may be caused by the neurological injury at the level of thoracic spinal cord of the brain-testicular axis needs further investigation.

Key words: Testis, Spinal cord, Transection, Ultrastructure

1.GİRİŞ

İnsan neslinin devamlılığı ile ilgili olarak pek çok araştırmacı insan ve hayvan testisleriyle ilgili histokimyasal¹, ışık² ve elektron mikroskopik^{3,4} düzeyde çalışmalar yapmışlardır. Bu çalışmalar sonucu testis yapısı ve fonksiyonları ayrıntılı bir şekilde rapor edilmiştir. Erkek infertilitesi ile ilgili olarak testis üzerine yapılan kapsamlı çalışmaların sonucunda, testis yapı ve fonksiyonunu bozan pek çok faktör ortaya çıkarılmıştır. Bu faktörler arasında yer alan organofosfatlar⁵ gibi kimyasal ajanlar, nikotin⁶, alkol⁷ ve yüksek ısı⁸ da testis yapısına etki ettiği rapor edilmiş olmasına rağmen açıklanamayan infertilite sorunları ile hala karşılaşılmaktadır. Spermin genetik yapısında oluşan bozulmalar ile infertilite arasında da sıkı bir bağlantı olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Bunların yanında, farklı düzeylerdeki medulla spinalis yaralanmalarının da testiküler atrofiye neden olabileceğine işaret edilmiştir^{9,10}.

Medulla spinalis yaralanmaları sonucunda lezyon seviyesinin altındaki tüm istemli hareketler daimi olarak kaybedilir ve refleks aktiviteleri baskılanır¹¹. Bunların yanında medulla spinalis yaralanmalarını takiben erkek fertilitesinde fonksiyon kayıpları gözlenmektedir.^{12,13} Üreme dönemlerinin başında medulla spinalis yaralanmasına maruz kalan 15-29 yaşları arasındaki yaklaşık 200 bin erkeğin tahminen %80'inden fazlasının bu durumla karşılaştığı rapor edilmiştir¹. Medulla spinalis yaralanmasına maruz kalan erkeklerde, sperm yapısında ve metabolizmasında meydana gelen bozuklukların infertilite nedeni olabileceği ileri sürülmüştür¹¹. Diğer taraftan da medulla spinalis yaralanması sonucu parapleji gelişen hastaların testislerinde görülen patolojik değişikliklerden impotens, ejakülasyon bozukluğu, üriner yolu enfeksiyonu, endokrinolojik bozukluklar, testiküler ısı⁸ artması ve ruhsal gerginlik gibi pek çok değişik faktörün sorumlu olabileceğine işaret edilmiştir¹³.

Huang ve arkadaşları medulla spinalis yaralanmasının sıçanlarda Sertoli hücre fonksiyonunu ve hipotalamo-hipofiziyal-gonadal yol üzerindeki akut etkisini, aynı zamanda torakal seviyelerindeki medulla spinalis yaralanmalarında spermatogenezisi ve hormonal değişiklikleri değerlendirmişlerdir^{12,14}. Ancak

konu ile ilgili araştırmaların çok az sayıda olması ve medulla spinalis hasarı ile testiküler atrofi ve spermatogenezin bozulması arasında kurulan belirsiz ilişkilendirme, medulla spinalis tam kesisinin testis yapısı üzerine olan olası etkilerinin ayrıntılı bir şekilde ortaya çıkarılmasına yönelik yapılan araştırmaların bugüne kadar hala çok yetersiz olduğunu göstermektedir.

Bu nedenle torakal düzeyde meydana gelen medulla spinalis tam kesisinin testis ultrastrüktürü üzerine etkisi hakkında daha fazla bilgi elde etmek ve kesiye bağlı olarak testiküler inervasyonun etkilenebileceği düşüncesi ile bu çalışmanın yapılması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Testis histolojisi¹⁵⁻¹⁷: Erkek üreme sistemi, testis, testis duktusları ya da diğer bir tanımla boşaltım kanalları, yardımcı üreme bezleri ve penisten oluşur. Skrotum içerisinde bulunan testisler, spermli oluşturacak cinsiyet hücrelerini içerirler. Testis, hem endokrin hem de ekzokrin salgılama özelliğine sahip karışık bir bezdir. Sitogenik bir bez olarak da tanımlanan testisin ekzokrin ürünü cinsiyet hücreleridir. Endokrin ürünü ise özelleşmiş hücreler tarafından sentez edilmektedir. Oval şekilde, 4-5 cm uzunlukta, 2.5-3.5 cm genişlikte, anteroposterior 3 cm çapta ve 20-30 gr ağırlığında olan testisler, skrotum içinde asılı vaziyette yer alır. Skrotum içerisindeki ısı vücut içi sıcaklığından yaklaşık 2-3°C daha düşüktür. Bu da cinsiyet hücrelerinin sperme dönüşebilmesi ve testisin fonksiyonu için önemlidir. Testisler, dıştan testiküler kapsül ile sarılıdır. Testiküler kapsül de tunika vaginalis, tunika albuginea ve tunika vasküloza olmak üzere 3 tabakadan meydana gelmiştir.

Tunika vaginalis: En dıştaki tabakadır. Bu tabakayı mezotelyal hücreler oluşturmuştur. Bu tabaka genellikle preparat hazırlama sırasında tahribata uğramaktadır. Testisin ön ve yan yüzeylerini çevreleyen kapalı seröz kesenin visseral tabakası peritondan köken alır. Bazal lamina üzerine oturan visseral tabakası yüzeyde skrotum üzerine uzanarak bu tabakanın paryetal tabakasını oluşturmaktadır. Visseral ve paryetal tabakalar arasında seröz boşluk bulunmaktadır. Bu boşluk testisin serbest bir şekilde hareket etmesini sağlamaktadır.

Tunika Albuginea: En belirgin tabaka olup düz kas hücrelerini içeren dens fibroelastik bağ dokusundan meydana gelmiştir. Tunika albuginea, bazal lamina ile tunika vaginalisten ayrılmıştır. Düz kas hücreleri testisin posterior yüzeyinde yoğunlaşmıştır.

Tunika Vasküloza: Testiküler kapsülün en iç tabakasıdır. Kan damarlarından zengin gevşek bağ dokusundan oluşmuştur.

En belirgin tabaka olan tunika albuginea, testisin posterior yüzeyinde, kalınlaşarak mediastinum testisi oluşturur. İnce, fibröz septumlar, mediastinum testisten içeriye doğru uzanarak testisi, 250-300 kadar testis lobüllerine böler. Her bir testis lobülünde, sayıları 1-4 arasında değişen, germ hücreleri ve Sertoli hücrelerini içeren, kıvrıntılı seminiferöz tübüller bulunur. Her bir seminiferöz tübül yaklaşık 0.2 mm çapa ve 20-80 cm uzunluğa sahiptir. Seminiferöz tübüllerin aralarında yer alan gevşek bağ dokusu içerisinde fibroblastlar, sinirler, kan damarları, lenf damarları ve Leydig hücreleri bulunmaktadır.

Seminiferöz tübül çok katlı germinal epitelten oluşur ve seminiferöz tübül ince bir bazal lamina üzerine oturmuştur. Bazal lamina dışında peritübüler doku bulunur. Bu dokuya membrana propria adı da verilmektedir. Membrana proprianın kalınlığı, yaşlılık ve klinefelter sendromu gibi kromozom anomalisi görülen olgularda artmaktadır.

2.1.1. Membrana propria^{17,18}: Seminiferöz tübüllere desteklik yapan membrana propria 4 tabakadan oluşmaktadır.

2.1.1.1. İç hücresel olmayan tabaka: Kollajen lifleri, glikoproteinleri ve hyaluronik asidi içeren tabakadır. 2 tabaka halinde görülür.

2.1.1.2. İç hücresel tabaka: Peritübüler düz kas hücreleri olarak adlandırılan, ince ve uzun şekilli myoid hücrelerden oluşmuştur. Myoid hücreler, mezenşimal hücreler olup ortama göre çeşitli hücre tiplerine dönüşürler. Hücreler her iki yüzlerinde küçük invajinasyonlar içerir ve hücrelerin çekirdekleri ince, uzundur. Myoid hücrelerin sitoplazmalarında bol miktarda granüler endoplazmik retikülüm, lipid damlacıkları, mikropinositotik veziküller ve miyofilamanlar bulunur.

2.1.1.3. Dış hücresel olmayan tabaka: Glikoprotein tabiatında PAS (periyodik asit shift) pozitif boyanan en dıştaki bazal laminadır. Kalınlığı iç hücresel olmayan tabakanın sadece bir laminası kadar olup, Klinefelter sendromunda ve fazla ısıya maruz bırakıldığında oldukça kalınlaşır.

2.1.1.4. Dış hücresel tabaka: Endotelial hücrelerden oluşmuştur.

2.1.2. Seminiferöz epitel içerisinde 2 ayrı hücre tipi bulunmaktadır.

2.1.2.A. Sertoli Hücreleri

2.1.2.B. Spermatogenik Hücreler

2.1.2.A. Sertoli Hücreleri^{15,16,18,19}

Destek hücreleri olup seminiferöz tübüllerde spermatogenik hücreler arasında yerleşim gösteren Sertoli hücreleri testiste önemli fonksiyonlara sahiptir. Bu hücreler puberteye kadar seminiferöz tübülün dominant hücre tipidir, fakat puberteden sonra yaklaşık %10'unu oluşturur. Tübülün bazal laminası üzerine oturmuş olan Sertoli hücreleri tübül boyunca düzgün aralıklarla yerleşim gösterirler. Sertoli hücrelerinin sınırları düzensiz olup belirgin değildir. Soluk boyanan ve ovoid şekilli olan çekirdeği hücre tabanının biraz yukarısında gözlenir. Bir tarafında derin bir yarık bulunan çekirdeğin içerisinde, Sertoli hücrelerini spermatogenik hücrelerden ayırt etmeyi sağlayan oldukça belirgin bir çekirdekçik bulunur. Elektron mikroskopta, Sertoli hücrelerinin sitoplazmasında dağınık halde serbest ribozomlar, primer ve sekonder lizozomlar ile çok iyi gelişmiş agranüler endoplazmik retikülüm ve az gelişmiş granüler endoplazmik retikülüm görülür. Lipid damlacıkları yönünden zengin bu hücrelerde tübüler tip mitokondriyonlar ve gelişmiş bir Golgi kompleksi gözlenir. Çoğu hayvan türlerinde gösterilemeyen, protein yapısında olan ve Sertoli hücre çekirdeği yakınında bulunan kristalloid cisimcik görülebilir. Bu yapıya Charcot-Böttcher kristali adı verilir.

Sertoli hücreleri sıkı bağlantı kompleksiyle birbirine bağlantılı olup kan-testis bariyerini oluşturur. Bu bağlantılar seminiferöz tübül içerisinde, bağlantılar ve bazal lamina arasında uzanan bazal kompartmana, bağlantılar ve seminiferöz tübül lümeni arasında bulunan adluminal kompartmana ayrılır. Bazal kompartman, interstisyel damarlar ile spermatogenik hücreler arasında kısmen serbestçe madde değişimine izin verirken adluminal kompartman ise madde değişimini engeller. Adluminal kompartmanda bulunan ve gelişmekte olan spermatosit ve spermatidlerin besin ve diğer maddelerden yararlanmaları Sertoli hücrelerine bağlıdır. Kan-testis bariyeri kan dolaşımından antijenlerin

geçişini önler ve lümene yakın bölgede bulunan spermatogenik hücreleri immün sistemin etkilerinde koruyarak bireyin kendi spermine karşı otoimmün cevap oluşumunu önler. Aynı zamanda kandan zararlı maddelerin germinal epitele geçişini de engeller.

Sertoli hücre fonksiyonları^{16,20}

- 1- Gelişen sperm hücrelerini desteklemek, korumak ve beslemek,
- 2- Spermiyogenez sonunda oluşan sitoplazma artıklarını fagosite etmek,
- 3- Spermiyasyonu yani seminiferöz tübül lümenine olgun spermin salınımını sağlamak,
- 4- Seminiferöz tübül lümenine proteinler ve iyonlardan zengin bir sıvı salgılamak,
- 5- Seminiferöz tübül lümeninde spermatogenez için gerekli olan testosteron konsantrasyonunu arttıran androjen bağlayıcı proteini (ABP) üretmek ve salgılamak.
- 6- Hipofiz bezinden FSH (folikül uyarıcı hormon) salınmasını önleyen inhibin hormonunu salgılamak,
- 7- Anti-Müllerian (Müllerian inhibe edici) hormonu üretmek ve salgılamak.
Bu hormon üreme organlarının gelişimi sırasında Müller kanallarının gerilemesini sağlar.

2.1.2.B. Spermatogenik Hücreler^{15,18-20}

Bu hücreler, 4-8 katlı hücre arasında değişen ve seminiferöz tübülü döşeyen çok katlı epiteli oluştururlar. Ayrıca bu hücreler çoğalarak ve differansiye olarak seminiferöz tübülün bazalinden lümenine doğru ilerler. Bu hücre tipleri;

Koyu boyanan ve kök hücreler olarak görev yapan Tip A koyu spermatogoniumlar bölünerek spermatogoniumların sayısını korurlar ve açık boyanan Tip A açık spermatogoniumları meydana getirirler. Ovoid çekirdeğe sahip Tip A açık spermatogoniumlar mitoz bölünmelerle diğer Tip A açık spermatogoniumları ve koyu boyanan Tip B spermatogoniumları oluştururlar. Tip B spermatogoniumlar mitoz bölünmelerle çoğalırlar ve bazal laminadan

uzaklaşan primer spermatositlere differansiye olurlar. Seminiferöz tübülde hacimce büyük olan primer spermatositler epitelin orta kısımlarında bulunur. Primer spermatositler, mayoz bölünme ile sekonder spermatositleri oluştururlar. Sekonder spermatositler de bölünerek spermatidleri meydana getirirler. Bu hücreler artık lümene çok yakındır. Spermatidlerin bölünme yeteneğine sahip olmamasından dolayı metamorfoza uğrayarak spermatozoonlara dönüşürler. Bu olaya spermiyogenez adı verilmektedir. Spermiyogenez sırasında Golgi kompleksinde küçük granüller birikir. Bunlar birleşerek akrozomal vezikül içerisinde tek bir akrozomal granülü oluşturur. Akrozomal vezikül, Golgi bölgesinden köken alan bir membranla çevrili olup bu membran çekirdek membranına yapışır ve çekirdek yüzeyinin yarısını örter. Golgi apparatus bundan sonra çekirdeğin diğer kutbuna göç eder. Bu göç ile birlikte akrozomal vezikülün sıvı içeriğinin resorpsiyonu görülür. Akrozomal vezikül ve akrozomal granül, akrozom olarak spermatid çekirdeğinin üzerinde baş şapkasını oluşturur. Spermin oosite ulaşması için oositin etrafındaki zona pelusida ve korona radiyata hücrelerini akrozomun içerdiği; hyaluronidaz, akrozin, asit fosfataz ve nöraminidaz gibi hidrolitik enzimlerin yardımıyla geçebilmektedir.

Çekirdeğin akrozom oluşmayan diğer kutbuna yaklaşan sentriyollerden biri nüklear membran ile birleşir ve spermin kuyruğunu oluşturur. Kuyruğun yapısında 9+2 mikrotübüller yer almaktadır. 9 çift mikrotübül çevrede, 2 tek mikrotübül ise ortada bulunmaktadır. Diğer sentriyol ise hücre yüzeyine göç eder ve longitudinal aksiyal filamanları halka (annulus) şeklinde sarar. Çekirdeğin yoğunlaşması, hafifçe düzleşmesi, incelik uzaması ve hücre membranının üzerine doğru ilerlemesi ile sperm başı oluşur. Sitoplazma içerisinde değişikliklere uğramış mitokondriyonlar, mitokondriyal kılıfın oluşması için bazal sentriyol ve annulus arasındaki bölgeye geçer ve flagellumun etrafında heliks şeklinde düzenlenir. Artık sitoplazmanın büyük bir kısmı kalıntı halindedir ve rezidüel cisimcik olarak atılır. Rezidüel cisimcikler, Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilmektedir.

Spermatidlerin differansiyasyonu sonucu oluşan spermatozoonlar seminiferöz tübülün lümenine geçer. Morfolojik olarak olgun fakat fonksiyonel olarak olgun olmayan bu evrede spermatozoonlar hareket yeteneğine sahip

değillerdir. Dolayısıyla oositi fertilize edebilmesi sınırlıdır. Spermatozoon olgunlaşmasının son basamağı kapasitasyondur.

Spermatogenik hücrelerin çoğalıp değişime uğramasıyla spermatozoon oluşmasına kadar geçen bu olaylar dizisine spermatogenezis denir. Spermatogenezisi, sıcaklık, kriptorşidizm, kabakulak, varikosel gibi patolojik durumlar etkilemektedir.

2.1.3.Spermin yapısı^{15,16,20}

Olgun germ hücresidir. Baş, kuyruk ve bağlantı parçasından oluşur. Kuyruk da esas parça, orta parça ve son parçadan meydana gelmiştir. Spermin baş kısmında yassılaştırmış çekirdeğin ön yarısını akrozom kaplar. Döllenme sırasında oositi çevreleyen zona pelusida ve korona radiyata hücrelerini aşması için hidrolitik enzimler içerir. Bağlantı parçası, çekirdeğe tutunan proksimal sentriyol ve aksoneme kaynaklık eden distal sentriyolden oluşur. Baş ve kuyruk, bağlantı parçası ile bağlanmıştır. Kuyruğun orta parçasında 2 heliks şeklinde dizilmiş mitokondriyon kılıfı bulunur. 9+2 mikrotübüler, aksonem kuyruğun merkezini kaplar. Aksonem ile mitokondriyal kılıf arasında 9 adet filamandan oluşan dış yoğun lifler bulunur.Esas parça kuyruğun en uzun parçası olup annulustan oluşur ve mitokondriyon kılıf içermez. Orta parçadan farklı olarak yedi dış yoğun liflerden, fibröz kılıftan ve merkezi aksonemden oluşur. Son parça ise sadece plazma membranı ile sarılmış 9+2 mikrotübüler aksonem içerir.

2.1.4. İnterstisyel doku ve Leydig hücreleri¹⁵

Seminiferöz tübüller arasında kalan doku içerisinde fibroblastlar, kollajen lifler, kan ve lenf damarları, sinir lifleri, makrofajlar, mast hücreleri ve Leydig hücreleri bulunmaktadır. Mediastinumdan organa giren kan damarları ve sinirler tekrar mediastinumdan organı terk ederler. İnterstisyumda yer alan ve ışık mikroskopunda vakuollü görünüme sahip olan Leydig hücreleri, bazen iki çekirdek de içerebilmektedir. Çekirdeğin içerisinde belirgin bir çekirdekçik

görülür. Leydig hücrelerinin sitoplazması içerisinde protein yapısında olan çubuk şekilli Reinke kristalleri görülebilir. Ayrıca sitoplazması lipid damlacıkları yönünden de zengindir. Elektron mikroskopik incelemelerde Leydig hücrelerinin sitoplazmalarında iyi gelişmiş agranüler endoplazmik retikülüm ve tübüler tip krista içeren mitokondriyonlara yaygın olarak rastlanmaktadır.

2.1.5. Testis Fonksiyonları^{15,19}

Testisin endokrin salgısı olan testosteron Leydig hücreleri tarafından sentez edilmektedir. Testosteron, spermatogenez üzerine etki etmektedir. Ayrıca cinsiyet karakterlerinin görünümünü, seksüel olgunlaşmayı, genital duktusların ve yardımcı bezlerin fonksiyonlarının devamlılığını kontrol eder. Hipofizin anterior lobundan salgılanan luteinizan hormon (LH), interstisyel hücrelerden testosteron salgılanmasını uyarmaktadır. Bu nedenle LH'a erkeklerde interstisyel hücre stimülan hormon (ICSH) adı da verilmektedir. Testosteron seviyesi azaldığında, hipotalamustan gonadotropin tetikleyici hormon (GnRH) salgılanmaktadır. GnRH da adenohipofizde bulunan gonadotroplardan ICSH salgılanmasını uyarmaktadır.

Sertoli hücrelerini direkt etkileyen hipofizin anterior lobundan salgılanan folikül stimüle edici hormon, androjen bağlayıcı protein sentezini ve salınımını stimüle eder. Bu protein androjenle birleşir ve spermiyogenezisin tamamlanmasını uyarır. FSH, Sertoli hücrelerinden inhibin ve aktivin üretimini başlatır. İnhibin, hipotalamus ve hipofizyal FSH salınımı üzerine negatif feedback etkisi yapar. Aktivin ise bunun tersi bir etkiye sahiptir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Hayvan Bakımı

Çalışmamızda 250–300 gram ağırlığında 30 yetişkin Wistar türü erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (TIPDAM) temin edildi ve tüm işlemler laboratuvarında gerçekleştirildi. Sıçanlar, sıcaklığı ortalama 22 °C ve 12 saat ışık 12 saat karanlık olan odadaki kafeslerde yaşatıldı ve adlibidum olarak beslendi.

3.2. Deneyin yapılışı

Sıçanlar her bir grupta 5 hayvan olmak üzere 6 gruba ayrıldı. 1. Grubu oluşturan 5 hayvan herhangi bir cerrahi işlem uygulanmadan kontrol grubu olarak değerlendirildi. Geriye kalan 25 hayvan, rompun ve ketamin anestezisi ile uyutuldu ve torakal 7-9 (T 7-9) seviyelerinde medulla spinalis transseksiyonu yapıldı. Ardından kesilen tabakalar kapatıldı ve kontrol grubu dahil tüm gruplardaki hayvanlar aynı ortam şartlarında yaşatıldı. Operasyon sonrasında 2. grubu oluşturan hayvanların medulla spinalis hasarından 1 gün sonra, 3. grubu oluşturan hayvanların medulla spinalis hasarından 3 gün sonra, 4. grubu oluşturan hayvanların medulla spinalis hasarından 7 gün sonra, 5. grubu oluşturan hayvanların medulla spinalis hasarından 14 gün sonra ve 6. grubu oluşturan hayvanların medulla spinalis hasarından 28 gün sonra anestezi altında testis dokuları ve kan örnekleri alındı. Deneyin yapılması sırasında, medulla spinalis kesisini takiben 14 ve 28 gün yaşatılan gruplarda ölen toplam 7 sıçan yerine, temin edilen yeni denekler kullanıldı.

Hayvanlara rompun ve ketamin intraperitoneal olarak uygulandı. Uyutulduktan sonra kalpten alınan 3-4cc'lik kan epandorf tüplere konuldu. Skrotumda asılı vaziyette bulunan sağ ve sol testis dokuları gluteraldehit solüsyonu içeren şişelere konuldu. Öncelikle kalpten alınan kanlar 3600 devirde 5 dakika santrifüj edilerek serum ve plazma kısmı ayrıldı. Serum kısmı başka bir epandorf tüplere konuldu ve -20 °C'de bekletildi. Serum örnekleri daha sonra

Çalışma periyoduna getirildi ve Çukurova Üniversitesi Tıp Fakütesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarında E170 İmmunoassey (Roche, Almanya) yöntemi ile kan serum düzeyinde Testosteron, FSH ve LH seviyeleri ölçüldü. Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 18.0 paket programı kullanıldı. Testosteron, FSH ve LH lmleri ortalama ve standart sapma, ortanca ve minimum–maksimum değerleri, Univariate Genral Linear Model analizi ile değerlendirildi. Değişkenlerin ikili karşılaştırılmalarında grup içi varyansların homojen olup olmamasına göre Bonferroni ve Tamhane testleri kullanıldı. Bütün testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

Skrotumdan ıkarılan sağ ve sol testisler elektron mikroskobu takibine alındı²¹. İlk olarak, alınan testislere insizyon yapıldı. pH'sı 7,4 olan %5'lik glutaraldehit solüsyonu içeren sağ ve sol testisler ayrı ayrı şişelere konuldu. + 4  C'de 1 saat glutaraldehit solüsyonu içerisinde bırakılmış olan testisler petri kutularına aktarıldı ve jilet ile 1 mm³'den küçük parçalara bölündü. Küçük parçalara bölünen dokular tekrar %5'lik glutaraldehit solüsyonuna alınarak 3 saat tespit edildi. Glutaraldehit tespitinden sonra dokular Millioning fosfat²² tamponunda 10 dakika bekletildi. 10 dakika sonunda dokular tekrar Millioning fosfat tamponuna alınıp 1 gece bekletildi. Ertesi gün dokular %1'lik osmium tetraoksit solüsyonunda 2 saat bekletilerek ikinci tespit işlemi tamamlanmış oldu. Bu tespitten sonra dokular 2 kez 10 dakika Millioning fosfat tamponuna tabi tutuldu ve dokular derecesi giderek artan alkol serilerinden geçirildi. Böylelikle dehidratasyon işlemi gerçekleştirildi.

<u>ALKOL SERİLERİ</u>	<u>SÜRE (DAKİKA)</u>	<u>SICAKLIK (�C)</u>
% 50 Etil alkol	15	+ 4
% 70 Etil alkol	15	+ 4
% 86 Etil alkol	15	+ 4
% 96 Etil alkol	15	+ 4
% 100 Etil alkol	10	+ 4
% 100 Etil alkol	10	+ 4

Bu zamana kadar yapılan işlemlerin hepsi +4 °C'de gerçekleştirildi. Ancak en son %100'lük etil alkole alınan dokular 10 dakika boyunca oda ısısında bekletildi ve bundan sonraki aşamalar da oda ısısında uygulanmaya devam edildi. Dehidrate olan dokular oda ısısında propilen oksit de 2 kez 15 dakika bekletildi. Daha sonra karışıma alındı. Karışım olarak 1 hacim propilen oksit ve 1 hacim gömme materyali olan rezin kullanıldı. Gömme materyalide 20 ml Araldite, 20 ml Sertleştirici, 0,6 ml Hızlandırıcı ve 1ml Plastikleştirici ile hazırlandı. Dokular karışımda 2 kez 30'ar dakika oda ısısında immerse edildi. Son aşama olarak dokular taze hazırlanmış rezin içerisinde rotatorda 1 gece döndürüldü. Ertesi gün dokular rotatordan alındı ve taze hazırlanmış rezin ile BM kapsüllere gömüldü. Kapsül içine gömülü olan dokular 60°C'lik etüvde 48 saat bekletildi ve süre sonunda etüvden çıkarılan blokların soğuması beklendi. Bloklardan 50 nm kalınlığında Reichert ultracut S ultramikrotomu kullanılarak kesitler alındı. Alınan kesitler 200-300 gözenekli bakır gridler üzerine toplandı. %70'lik etil alkolde doymuş uranil asetat ve Reynolds'un kurşun sitrat solüsyonları ile boyanan kesitler, Jeol JEM-1400 Transmisyon Elektron Mikroskobu ile incelendi.

4. BULGULAR

4.1. Kontrol Grubu Testis İnce Yapısı

Kontrol grubuna ait sıçan testis doku örneklerinin elektron mikroskopik incelenmesinde seminiferöz tübülleri çevreleyen membrana proprianın normal yapıda olduğu gözlemlendi. Membrana propria, bazal lamina, kollajen lifler ve myoid hücrelerden oluşmaktaydı. Membrana proprianın iç hücresel tabakasında ince, uzun şekilli myoid hücreler bulunmaktaydı. Myoid hücrelerin sitoplazmalarında granüler endoplazmik retikülüm sisternaları ve lipid damlacıkları görülmektedir. Ayrıca myoid hücrelerin etrafında kollajen lif demetlerinin varlığı gözlemlendi. Membrana proprianın iç hücresel olmayan tabakası üzerinde seminiferöz tübülde yer alan Sertoli hücrelerinin (Şekil 1) ve spermatogenik hücrelerin varlığı izlenmekteydi (Şekil 2).

Seminiferöz tübülün bazal laminası üzerine oturmuş olan Sertoli hücrelerinin bir tarafında derin bir çöküntüye sahip çekirdeği içerisinde belirgin bir çekirdekçik yer almaktaydı. Sertoli hücrelerin sitoplazmasında çok iyi gelişmiş agranüler endoplazmik retikülüm, belirgin Golgi kompleksi ve az gelişmiş granüler endoplazmik retikülüm görülmektedir. Lipid damlacıkları yönünden zengin olan bu hücreler ayrıca tübül tip mitokondriyonlara da sahipti (Şekil 1).

Komşu Sertoli hücreleri arasında sıkı bağlantı kompleksleri yer almaktaydı. Bu bağlantı kompleksinin altında, bazal lamina üzerine oturmuş olan spermatogoniumlar bulunmaktaydı. Spermatogoniumların sferikal ve merkezi yerleşimli bir çekirdeğe sahip oldukları izlendi. Bu hücrelerin sitoplazmasında dağınık halde mitokondriyonlar da görülmektedir (Şekil 2).

Spermatogoniumlar, seminiferöz tübülde bazal lamina üzerinde yerleşim gösterirken daha büyük hücreler olan primer spermatositler, tübülün orta kısımlarında yer almaktaydı. Primer spermatositler, Sertoli hücrelerinin sitoplazması ile sarılmışlardı. Sekonder spermatositlerin orta derecede elektron densiteye sahip olduğu görülmektedir. Bu hücrelerin sitoplazmalarında mitokondriyonlar ve çekirdeğin bir kutbuna yerleşmiş olan Golgi kompleksi

izlenmekteydi. Sekonder spermatositlerin üzerinde ve lümene yakın olarak yerleşim gösteren spermatidler bulunmaktaydı. Spermatidlerde çekirdek ve sitoplazmik organeller normal görünümdeydi (Şekil 3).

Seminiferöz tübüllerin aralarında yer alan Leydig hücreleri tek tek veya gruplar halinde bulunmaktaydı. Hücrelerde oval ya da yuvarlak bir adet çekirdeğin varlığı gözlemlendi. Çekirdek kılıfı yer yer çekirdek içerisine doğru derin invajinasyonlar göstermekteydi. Sitoplazmada gelişmiş agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları, tübüler krista içeren mitokondriyonlar ve lipid damlacıkları belirgin olarak izlendi (Şekil 4).

4.2. Medulla Spinalis Yaralanmasına Maruz Bırakılan Sıçan Testislerinin İnce Yapısı

Medulla spinalis yaralanmasına maruz bırakılan sıçanların, yaralanmadan sonra 1, 3, 7, 14 ve 28. günde elde edilen testis dokularının elektron mikroskopik incelenmesinde interstisyum, membrana propria ve seminiferöz epitelde farklı düzeylerde dejeneratif değişikliklerin olduğu görüldü. Medulla spinalis yaralanmasının birinci gününde belirgin bir yapısal değişiklik görülmemekle birlikte hasar süresi uzadıkça hücrelerdeki dejenerasyonun arttığı dikkati çekti.

Medulla spinalis yaralanmasından 1 gün sonra elde edilen testis dokularının incelenmesinde belirgin bir yapısal değişiklik görülmedi. Seminiferöz tübüllerini saran, bazal lamina, kollajen lifler ve ince uzun mekik şekilli myoid hücrelerden oluşan membrana propria normal görünümdeydi. Membrana propriadaki myoid hücrelerde çekirdek ve sitoplazmik organeller de normal görünümdeydi. Seminiferöz tübülde yer alan Sertoli hücrelerinde belirgin bir çekirdek ve sitoplazmada tübüler tip mitokondriyonlar, çok sayıda agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları ve lipid damlacıkları yer almaktaydı. Seminiferöz tübül içerisindeki diğer hücre tipi olan spermatogenik hücrelerin çekirdek ve sitoplazmik organellerinde dikkati çekecek bir farklılığın olmadığı görüldü (Şekil 5).

İnterstisyumda yar alan Leydig hücrelerinde görünüm kontrol grubuna benzemekle birlikte agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarında hafif genişlemeler dikkati çekmekteydi (Şekil 6).

Medulla spinalis travmasından 3 gün sonra alınan doku örneklerinde, testiküler yapıda dejeneratif değişikliklerin başladığı ve daha sonraki günlerde dejenerasyonun giderek arttığı gözlemlendi. 3. günde seminiferöz tübül bazal laminası normal yapıda izlenirken myoid hücrelerin elektron densitesinde hafif bir artışın olduğu dikkati çekti. Bazal lamina üzerine oturmuş olan spermatogoniumların sitoplazmasındaki organellerde belirgin bir değişiklik görülmemekle birlikte, bazı spermatogonyumların çift çekirdekli olduğu dikkati çekti (Şekil 7). Tübülün bazalinden lümenine kadar uzanan Sertoli hücrelerinin çöküntülü çekirdeklerinin normal yapıda olduğu görüldü. Sertoli hücrelerinin sitoplazmasında az miktarda vakuolizasyon ve bunun yanı sıra elektron yoğun partiküller olarak görünen lipofuksin granülleri de dikkati çekmekteydi (Şekil 8). Ayrıca Sertoli hücre sitoplazmasındaki lipid damlacıklarının büyüklüklerinde ve miktarında da hafif bir artışın olduğu izlenmekteydi (Şekil 9). Seminiferöz tübüllerin aralarında yer alan Leydig hücrelerinde, çekirdek ve mitokondriyonlar normal görünümde olmakla birlikte, agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarının genişlediği ve hücrenin vakuoller bir görünüm aldığı ilgi çekici bulundu (Şekil 10).

Travmadan 7 gün sonra alınan testis dokularının incelenmesinde membrana propriada yapısal organizasyonun bozulduğu (Şekil 11) ve dejenerasyonun arttığı gözlemlendi; membrana propria duvarının kalınlığı belirgin olarak artmıştı. Membrana propria bazal laminasının ondüleli bir şekil aldığı ve kollajen lif miktarının artmış olduğu gözlenmekle birlikte myoid hücrelerin genellikle normal yapılarını korudukları dikkati çekti. Yaralanma sonrası sürenin uzamasıyla, Sertoli hücrelerinde dejeneratif değişiklikler görülmekle birlikte bu hücreler tipik girintili çekirdekleri, mitokondriyonları ve çok miktardaki lipid içerikleri nedeniyle ayırt edilmekteydi. Sertoli hücrelerinin sitoplazmasında dens granüllere ve nispeten genişlemiş agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarına rastlandı. Sertoli hücre sitoplazması içinde yer yer litik alanlar dikkati çekmekteydi (Şekil 11-12). Spermatogoniumlar ile Sertoli hücreleri

arasında yer yer genişlemeler oluşmuştu. Aynı zamanda spermatogoniumların birbirinden ayrıldıkları, aralarında geniş boşlukların olduğu izlenmekteydi (Şekil 13). Diğer taraftan bazı spermatidlerde dejeneratif akrozomal değişiklikler de dikkat çekmekteydi (Şekil 14). Leydig hücrelerinin çekirdek ve sitoplazmik özellikleri, yaralanma sonrası 3. gün bulgularına benzerlik göstermekteydi.

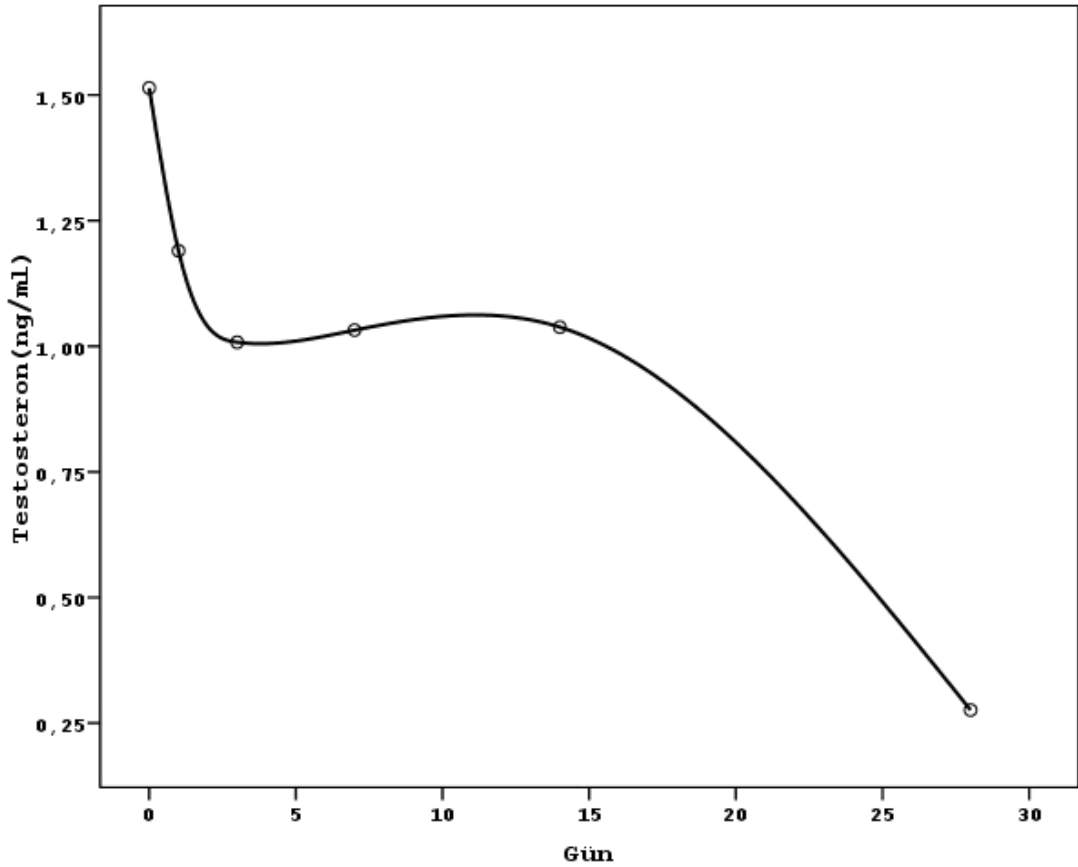
Travmadan 14 gün sonraki testis dokularının elektron mikroskopik incelenmesinde seminiferöz tübülü saran membrana proprianın belirgin bir şekilde kalınlaştığı görüldü (Şekil 15). Ayrıca kollajen lif miktarının artmış olduğu ve bazal laminanın girintili çıkıntılı bir hal aldığı da izlendi. Sertoli hücrelerinin sitoplazmasında artmış ve irileşmiş lipid damlacıkları ve çok sayıdaki elektron dens granüller ayırt edilmekteydi. Sertoli hücrelerinde genişlemiş agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları nedeniyle sitoplazmanın vakuollü bir görünüm aldığı izlenmekteydi. Ayrıca bazı Sertoli hücrelerinin piknotik çekirdeğe (Şekil 16) sahip olduğu gözlemlendi. Yapısal bozukluklar gösteren seminiferöz tübül içinde bazale yakın yerleşimli spermatogoniumlar arasında yer yer boşluklar dikkat çekmekteydi (Şekil 17). Leydig hücreleri çekirdek ve sitoplazmik özellikleri yönünden normal olarak değerlendirildi.

Travmadan 28 sonra elde edilen testis biyopsilerinin elektron mikroskopik incelenmesinde, dejeneratif değişikliklerin belirgin olarak arttığı görüldü. 7. ve 14. günlerde görülen membrana propriadaki yapısal bozukluklar 28. günde daha da fazlaydı. Membrana propria ve seminiferöz tübülün epitel hücreleri arasında, hücrel lizise bağlı olarak geniş boşlukların olduğu dikkati çekmekteydi (Şekil 18). Sertoli hücre sitoplazmasında çok sayıda sekonder lizozomlar ayırt edildi. Sertoli hücrelerindeki lipid damlacıkları irileşmiş ve agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları oldukça genişlemişti. Bazı Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarının elektron densliği de artmıştı.

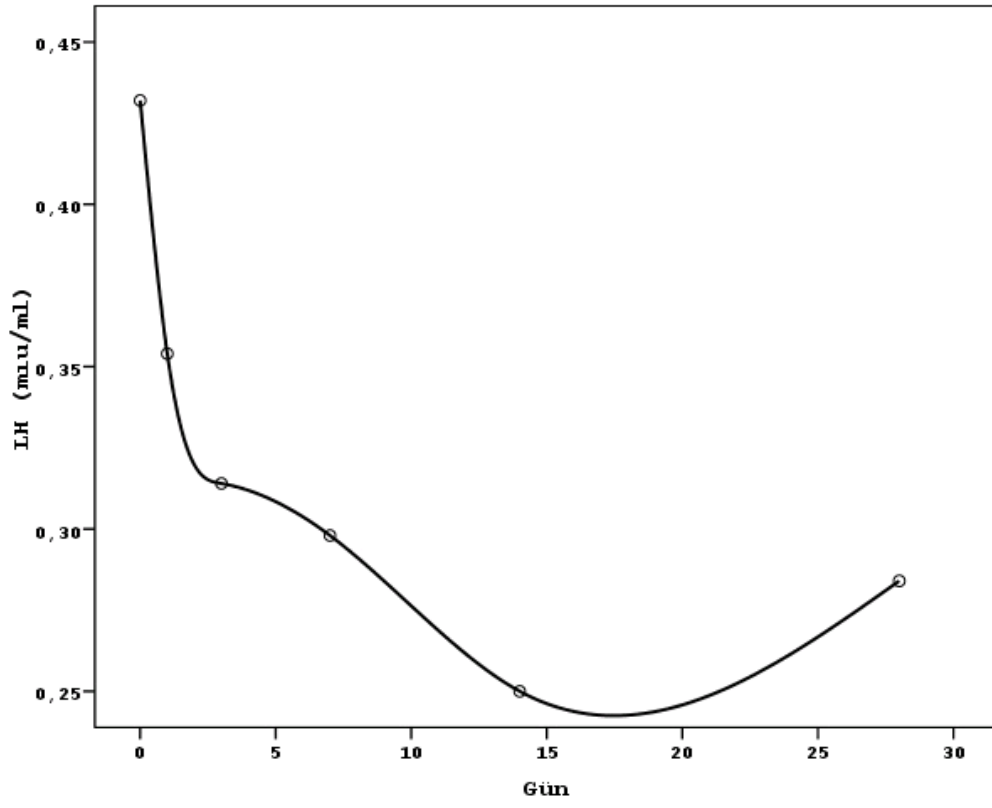
Bunların yanında seminiferöz tübülde bazı alanlarda spermatositler arasında düzensiz genişlemeler ve hücre kalıntılarının varlığı göze çarpmaktaydı (Şekil 19). Akrozomal dejenerasyon gösteren spermatidlerin (Şekil 20) yanında, gelişme bozukluğu olan spermatidlere de sıklıkla rastlandı (Şekil 21). İnterstisyumda yer alan Leydig hücreleri, çekirdek ve sitoplazmik özellikleri yönünden kontrol grubuna benzemektedir.

4.3. Hormon Analizi

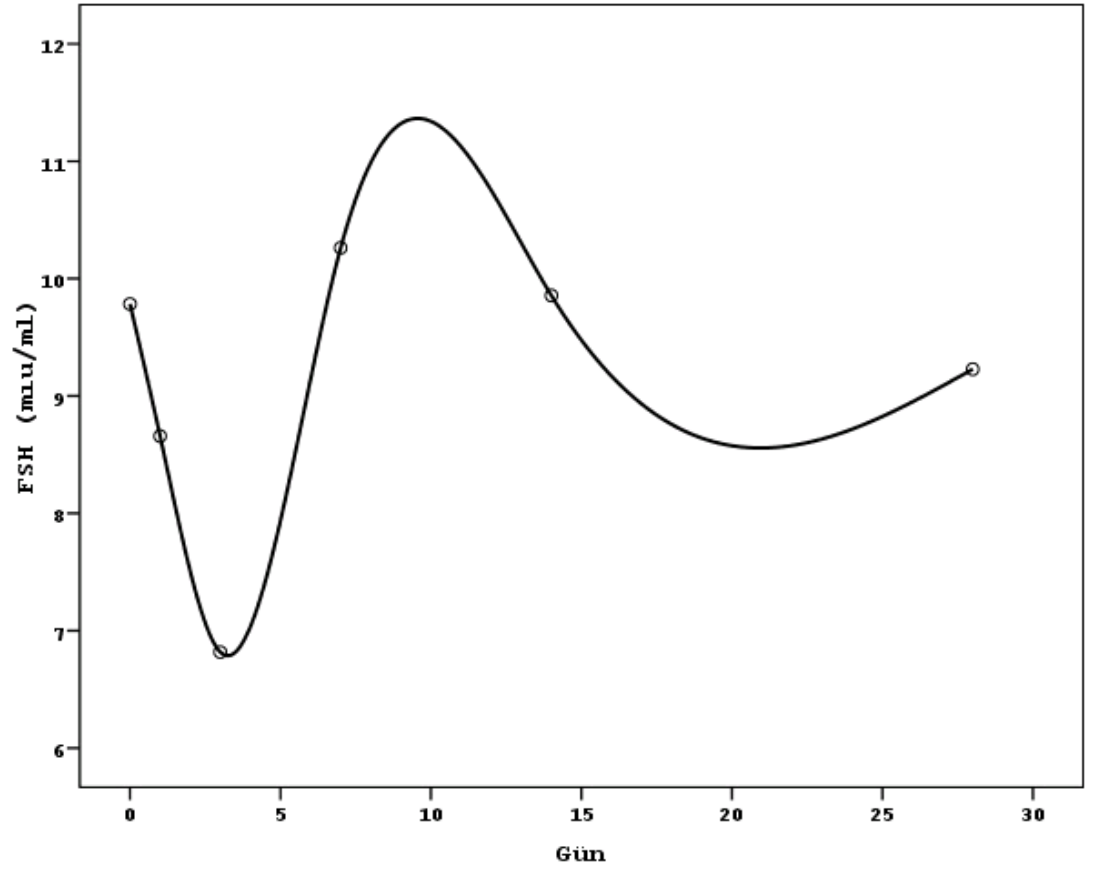
Medulla spinalis hasarı yapılan sıçanlardan operasyondan sonra 1, 3, 7, 14 ve 28. günlerde kan örnekleri alınarak serumda; Testosteron, FSH ve LH seviyeleri ölçüldü. Yaralanmadan 1 gün sonrasına ait kan örneklerinde testosteron seviyesi, kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı, 3, 7 ve 14. günde azalma devam etmekle birlikte, testosteron seviyesinin üç grupta da birbirine yakın olduğu, 28. günde hormon seviyesinin en düşük düzeyde bulunduğu kaydedildi (Tablo 1). Serum LH seviyesinin yaralanmadan 1 gün sonrasına ait kan örneklerinde, kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı, 3, 7 ve 14. günde azalmanın sürdüğü, 28. günde hormon seviyesinin tekrar yükselmeye başladığı dikkati çekti (Tablo 2). FSH seviyesinin, yaralanmadan 1 ve 3 gün sonrasına ait kan örneklerinde belirgin olarak azaldığı, 7,14 ve 28. günlerde hormon seviyelerinin her üç grupta da tekrar kontrol grubu düzeyine ulaştıkları gözlemlendi (Tablo 3).



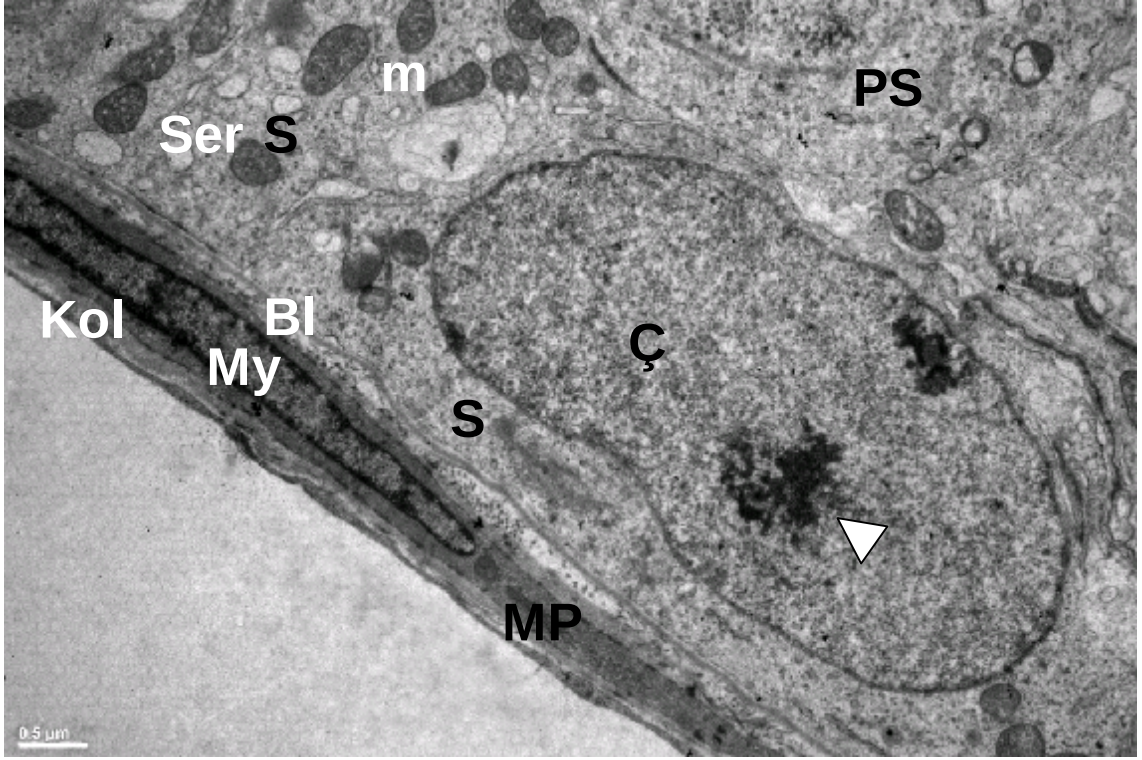
Tablo 1. Medulla spinalis yaralanması sonrasında serum testosteron değerleri.



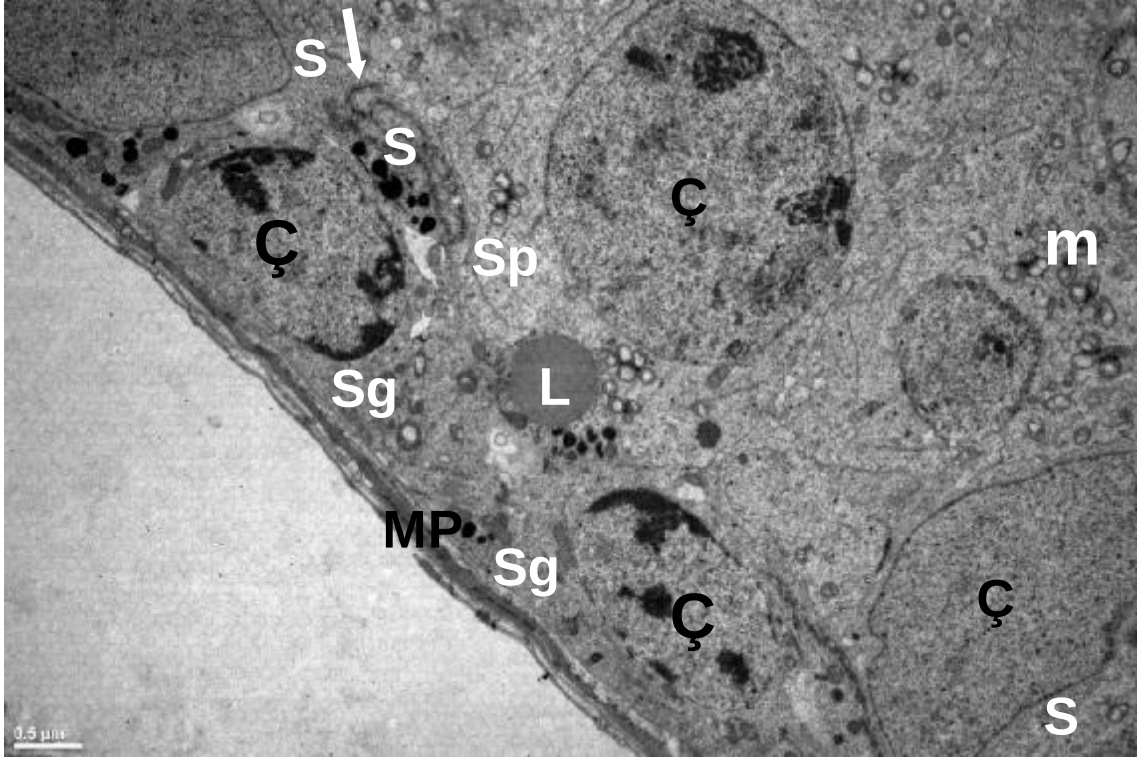
Tablo 2. Medulla spinalis yaralanması sonrasında serum LH değerleri.



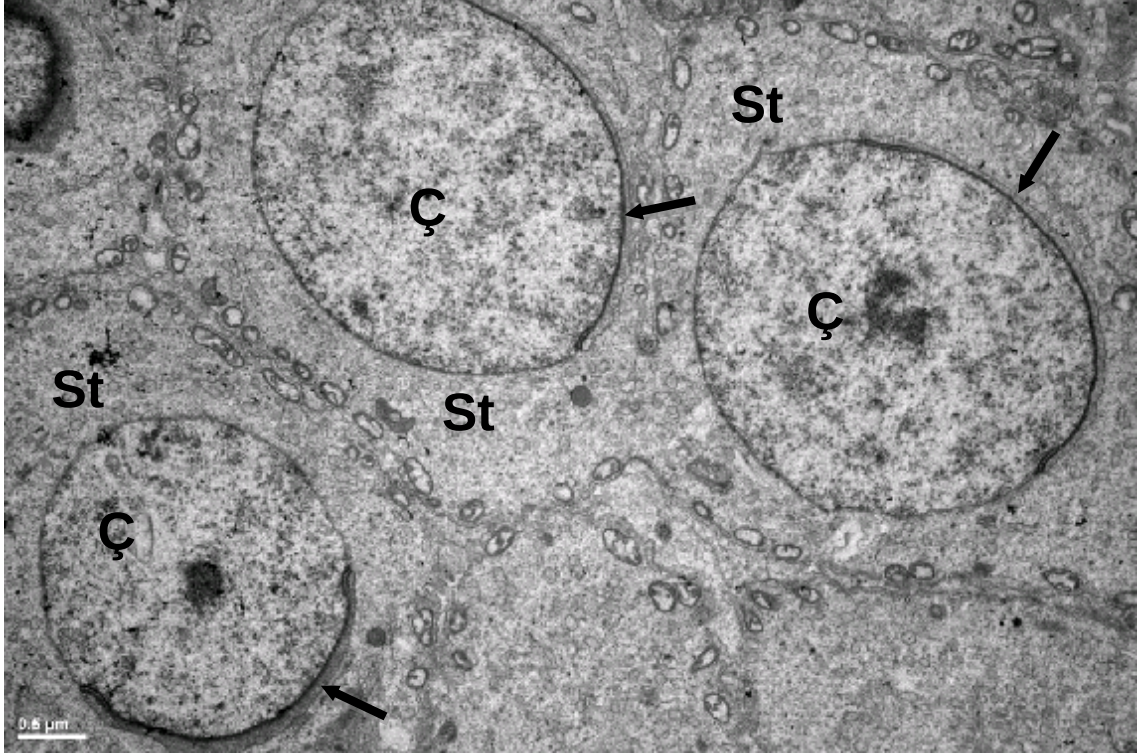
Tablo 3. Medulla spinalis yaralanması sonrasında serum FSH değerleri.



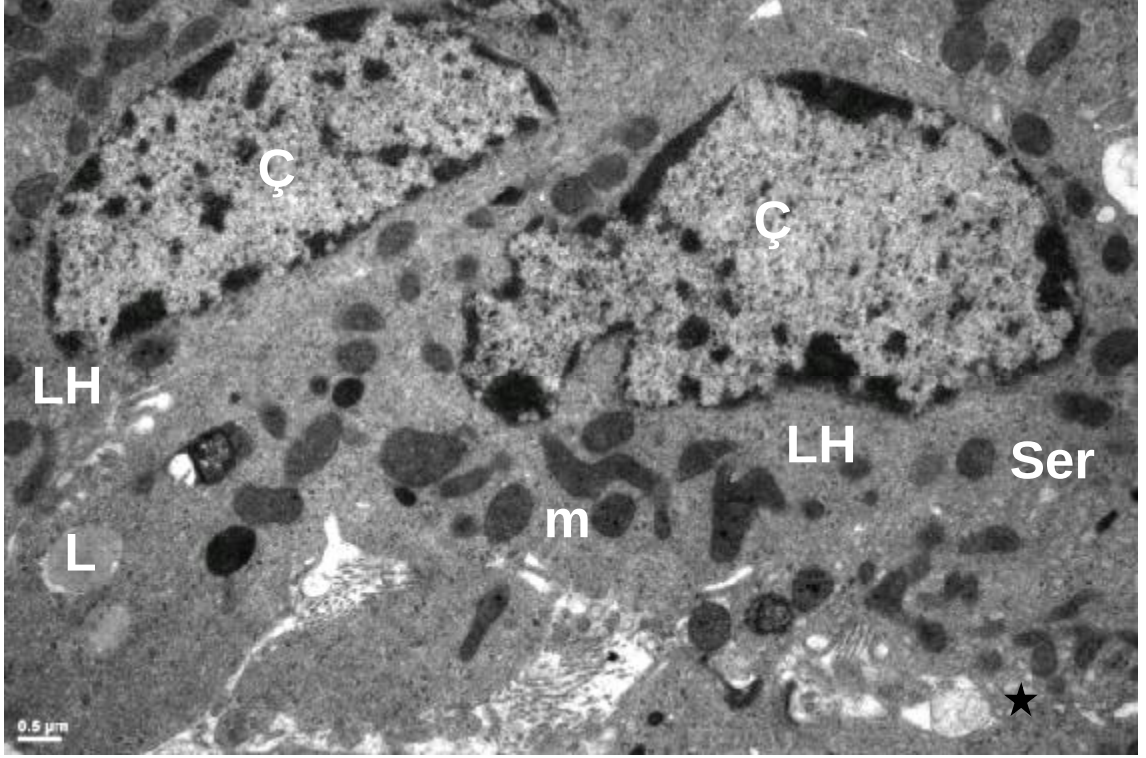
Şekil 1. Kontrol grubu. Seminiferöz tübülü çevreleyen membrana propriada (MP) myoid hücreler (My) izlenmektedir. Bazal lamina (Bl) üzerine oturmuş seminiferöz epitelde Sertoli hücreleri (S) ve primer spermatosit (PS) görülmektedir. Sertoli hücrelerinde (S) ökromatik bir çekirdek (Ç), çekirdek içerisinde çekirdekçik (ok başı) izlenmektedir. Sitoplazmada mitokondriyonlar (m), agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları (Ser) gözlenmektedir.



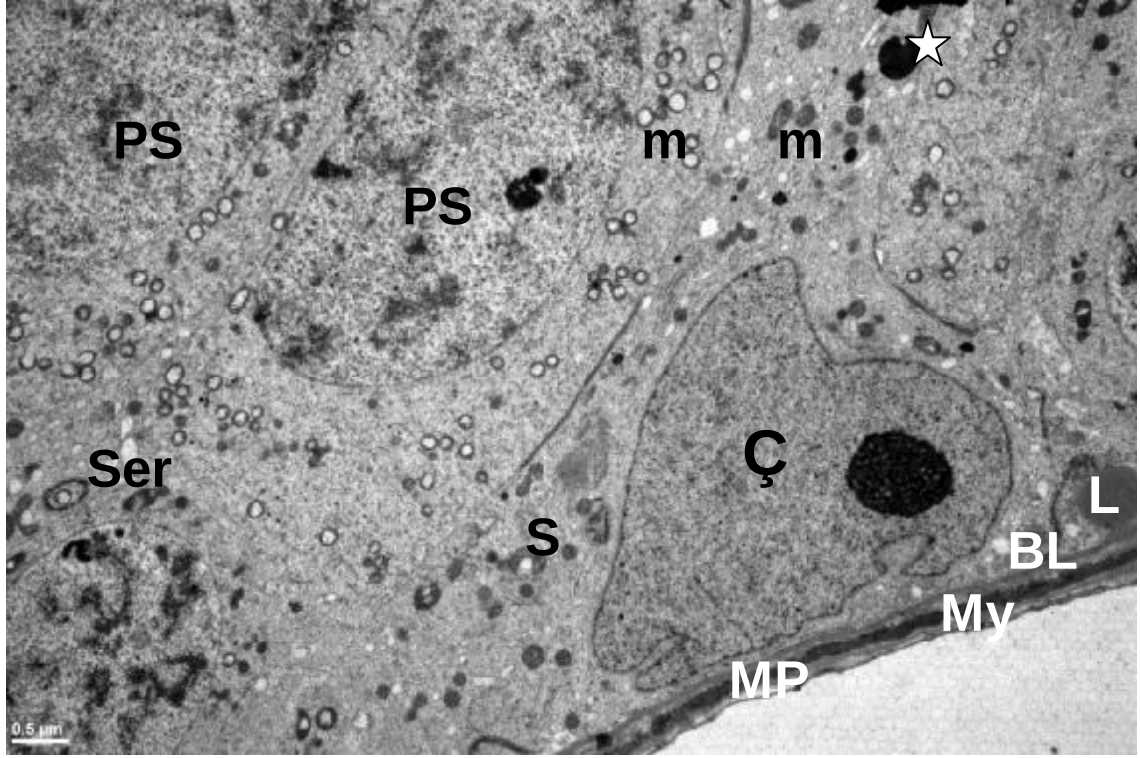
Şekil 2. Kontrol grubu. Seminiferöz tübülde membrana propria (MP) ve seminiferöz epitel izlenmektedir. Epitelde bazal lamina (Bl) üzerine oturan Sertoli hücreleri (S) ve spermatogoniumlar (Sg) görülmektedir. Ayrıca epitelin daha üst seviyesinde normal görünümlü spermatosit (Sp) izlenmektedir. Sertoli hücreleri (S) arasında sıkı bağlantı kompleksi (ok) bulunmaktadır. Çekirdek (Ç), mitokondriyonlar (m), lipid damlacıkları (L) gösterilmiştir.



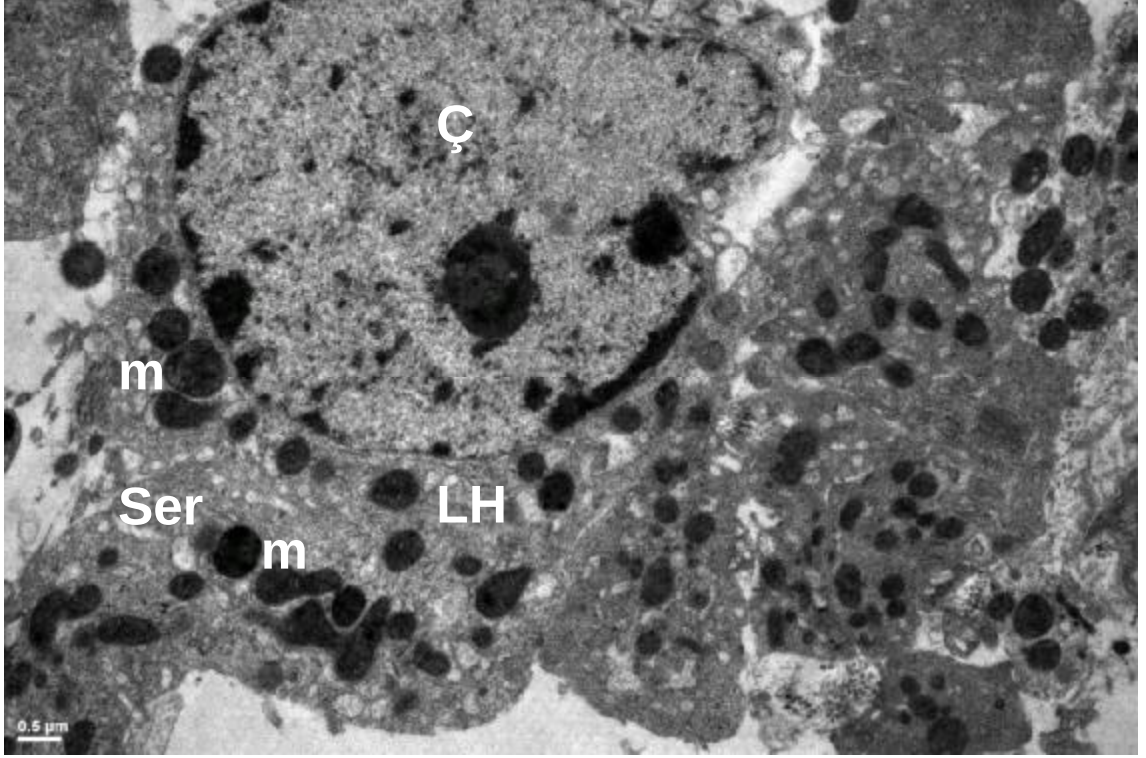
Şekil 3. Kontrol grubu. Seminiferöz tübülün lümenine yakın yerleşim gösteren spermatidlerde (St) çekirdek (Ç) ve sitoplazmik organellerin normal yapıda oldukları görülmektedir. Çekirdeğin etrafında normal gelişim gösteren akrozomal vezikül oluşumu (oklar) dikkati çekmektedir.



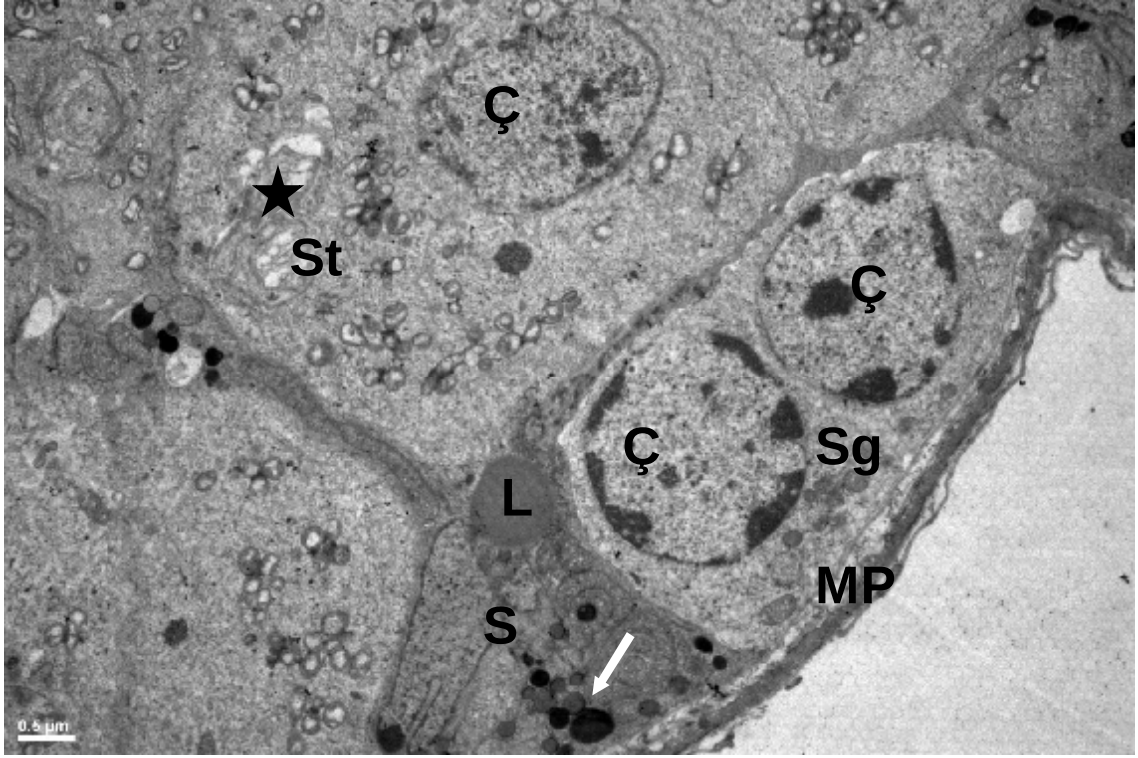
Şekil 4. Kontrol gurubu. Seminiferöz tübüllerin aralarında yer alan Leydig hücreleri (LH) görülmektedir. Leydig hücrelerinde (LH) çekirdek (Ç) ile sitoplazmalarında yer alan tübüler kristallara sahip mitokondriyonlar (m), agranüler endoplazmik retikülüm (Ser) ve lipid damlacıkları (L) izlenmektedir.



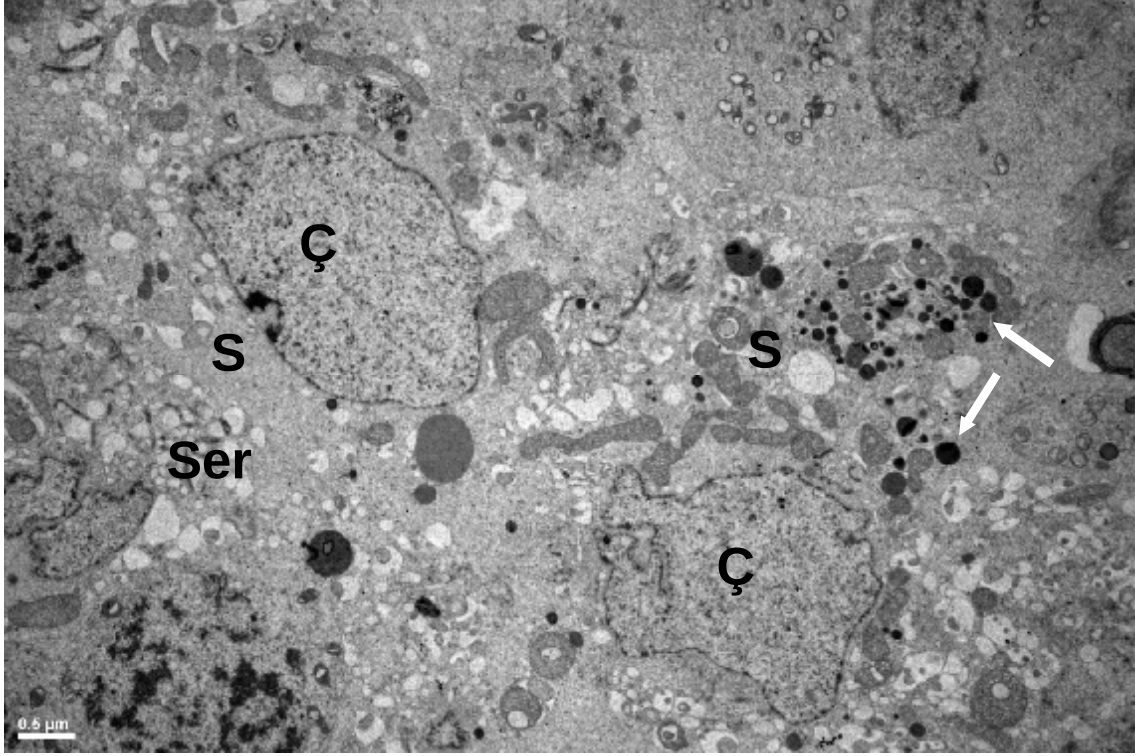
Şekil 5. Medulla spinalis yaralanmasından 1 gün sonra. Seminiferöz tübülde membrana propria (MP) ve seminiferöz epitel izlenmektedir. Epitel Sertoli hücreleri (S) ve primer spermatositlerin (PS) çekirdek (Ç) ve sitoplazmik organellerin normal yapılarını korudukları gözlenmektedir. Mitokondriyonlar (m), agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları (Ser), lizozom (*) ve lipid damlacıkları (L) gösterilmiştir.



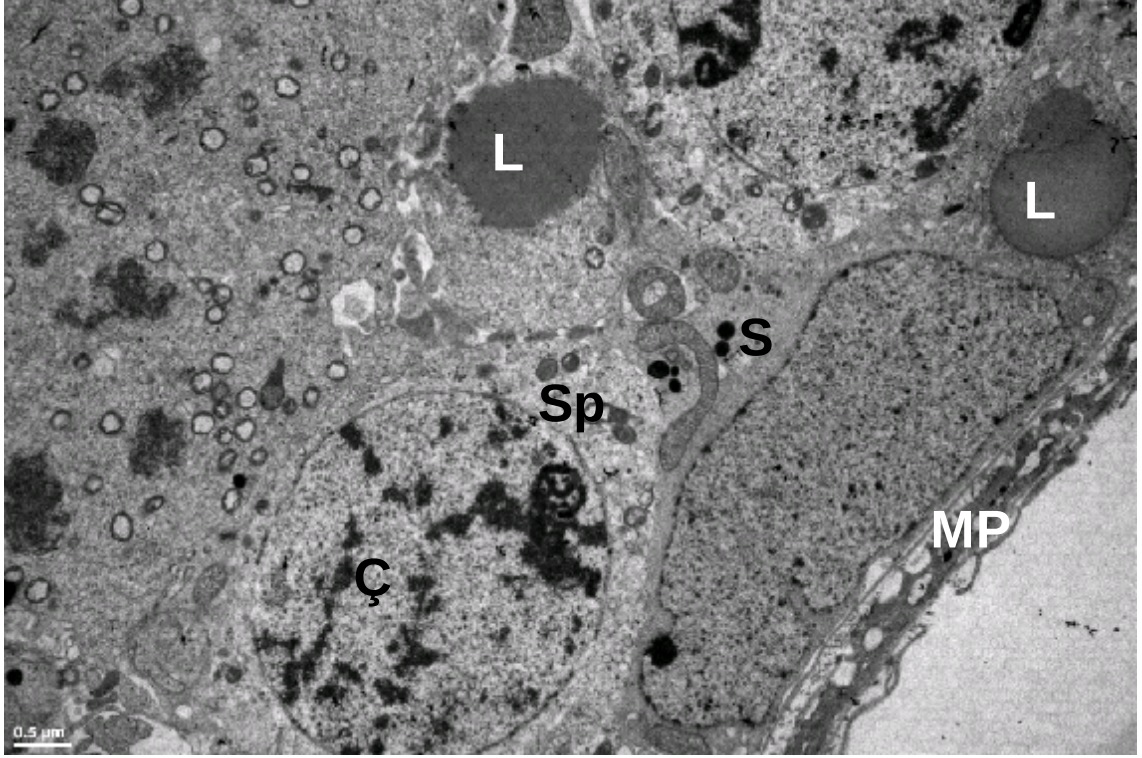
Şekil 6. Medulla spinalis yaralanmasından 1 gün sonra. İnterstisyumda yer alan Leydig hücrelerinde (LH), çekirdek (Ç) ve mitokondriyonların (m) normal yapılarını korudukları izlenmektedir. Sitoplazmasında yer alan agranüler endoplazmik retikülüm tübüllerinde (Ser) hafif genişleme dikkati çekmektedir.



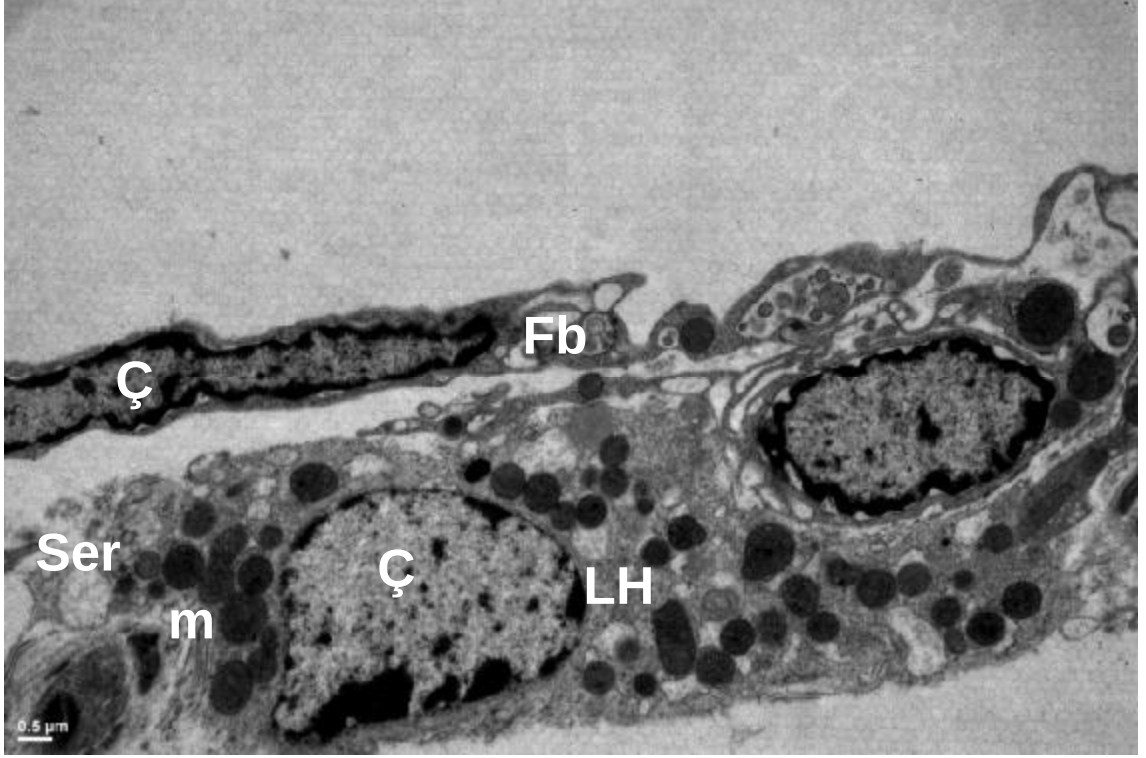
Şekil 7. Medulla spinalis yaralanmasından 3 gün sonra. Seminiferöz tübülde membrana propria (MP) üzerine oturan seminiferöz epitelde çift çekirdekli (Ç) spermatogonium (Sg) ile Sertoli hücre (S) sitoplazmasında elektron dens olarak izlenen lipofuksin granülleri (ok) izlenmektedir. Spermatidlerde (St) sitoplazmik organellerde hafif vakuolizasyon (*) dikkati çekmektedir..



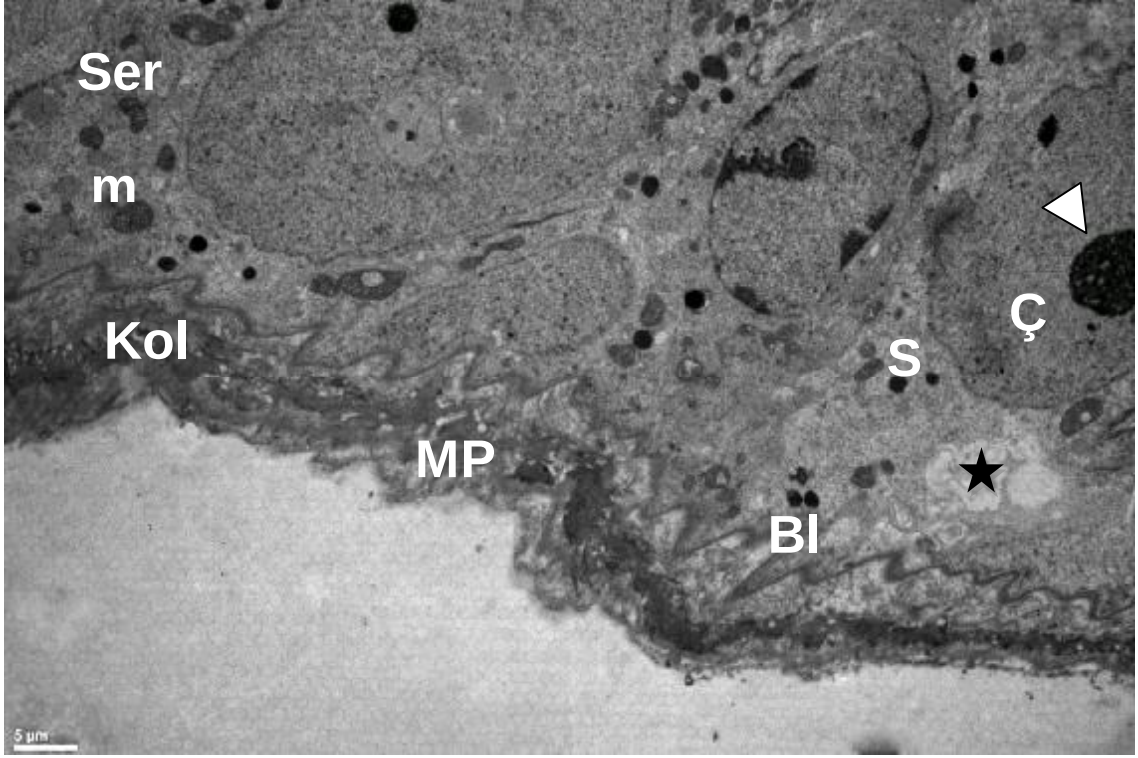
Şekil 8. Medulla spinalis yaralanmasından 3 gün sonra. Seminiferöz tübül kesitinde Sertoli hücrelerinde (S) çekirdeğin (Ç) nispeten normal yapısını koruduğu izlenmekle birlikte sitoplazmada agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarında (Ser) hafif genişleme ve lipofuksin granüllerinde (oklar) artış dikkati çekmektedir.



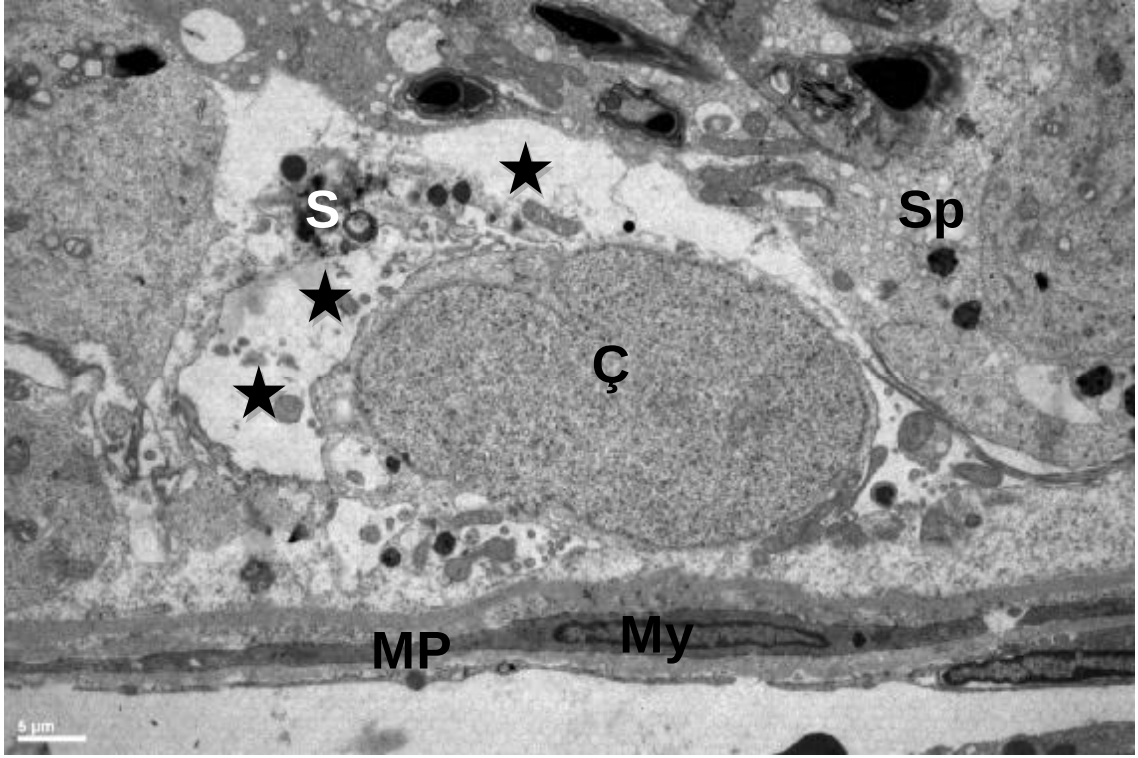
Şekil 9. Medulla spinalis yaralanmasından 3 gün sonra. Seminiferöz tübülü çevreleyen membrana propria (MP) ve seminiferöz epitel izlenmektedir. Seminiferöz epitelde Sertoli hücre (S) sitoplazmasında iri lipid damlacıklarının (L) varlığı izlenmektedir. Spermatositlerde (Sp) çekirdekte (Ç) hafif kromatin yoğunlaşması görülmektedir.



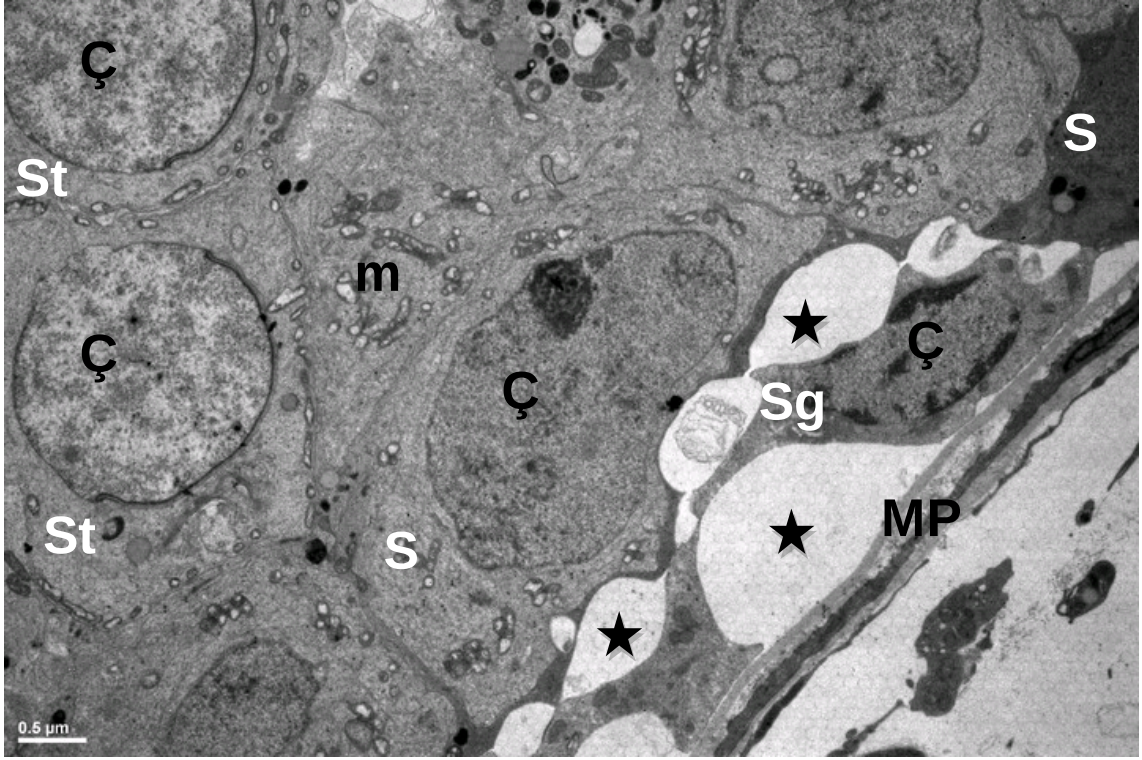
Şekil 10. Medulla spinalis yaralanmasından 3 gün sonra. Seminiferöz tübüllerin aralarında yer alan Leydig hücrelerinde (LH) agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarının (Ser) genişlediği dikkati çekmektedir. Fibroblast (Fb), çekirdek (Ç) ve mitokondriyonlar (m) gösterilmiştir.



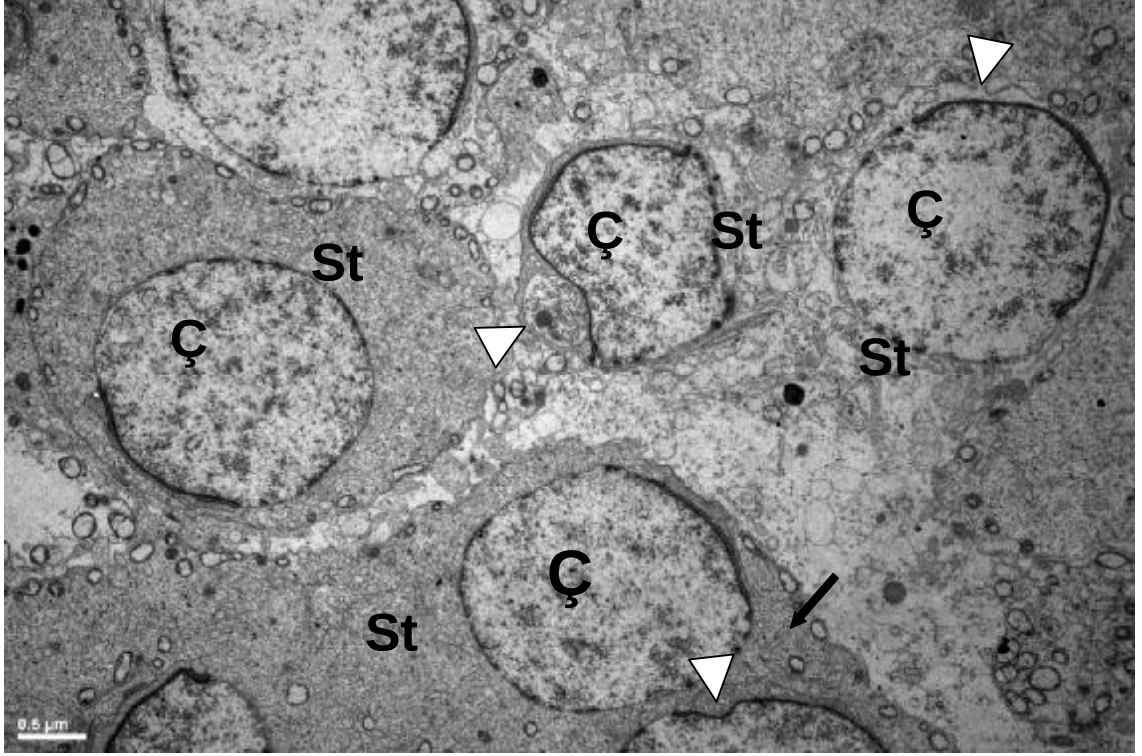
Şekil 11. Medulla spinalis yaralanmasından 7 gün sonra. Seminiferöz tübülü saran membrana proprianın (MP) yapısal bütünlüğünün bozulduğu, bazal laminanın (BI) ondüleli bir şekil aldığı ve kollajen lif (Kol) miktarının da artmış olduğu görülmektedir. Seminiferöz epitelde yer alan Sertoli hücrelerinin (S) sitoplazmalarında vakuolizasyon (*) dikkati çekmektedir. Çekirdek (Ç), çekirdekçik (ok başı), mitokondriyonlar (m) ve agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları (Ser) gösterilmiştir.



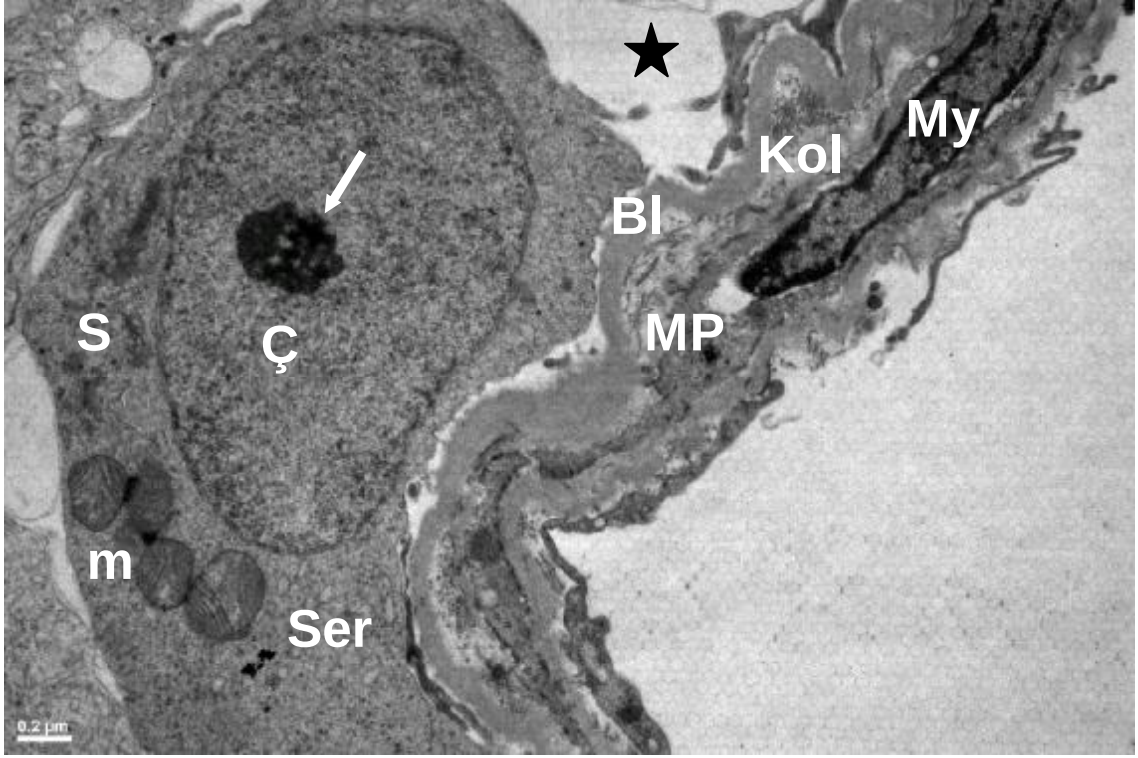
Şekil 12. Medulla spinalis yaralanmasından 7 gün sonra. Seminifeöz tübülü çevreleyen membrana propria (MP) kalınlığında artış, Sertoli hücreleri (S) sitoplazmalarında geniş litik alanların (*) varlığı dikkati çekmektedir. Myoid hücre (My), çekirdek (Ç), spermatosit (Sp) gösterilmiştir.



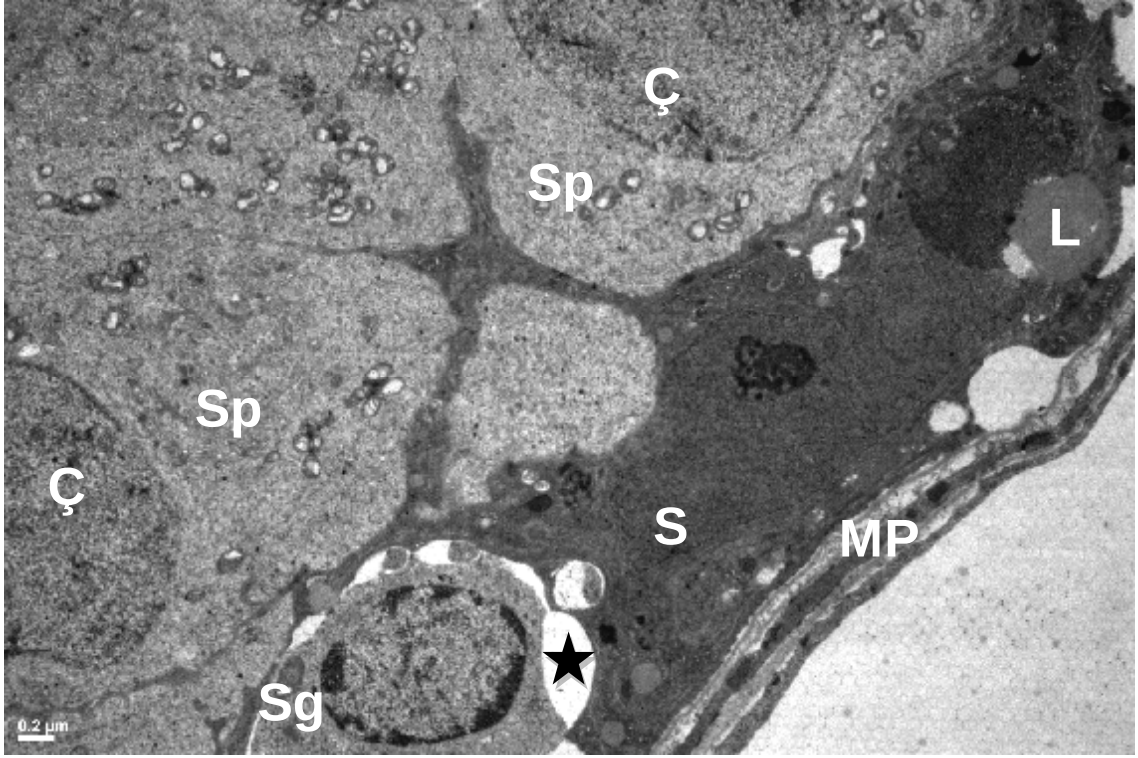
Şekil 13. Medulla spinalis yaralanmasından 7 gün sonra. Seminiferöz tübülde membrana propria (MP) ile seminiferöz epitel izlenmektedir. Seminiferöz epitelde spermatogoniumlar (Sg) arasında hücreler arası aralıkların genişlediği (*) dikkati çekmektedir. Sertoli hücresi (S), spermatidler (St), çekirdek (Ç), mitokondriyonlar (m) işaretlenmiştir.



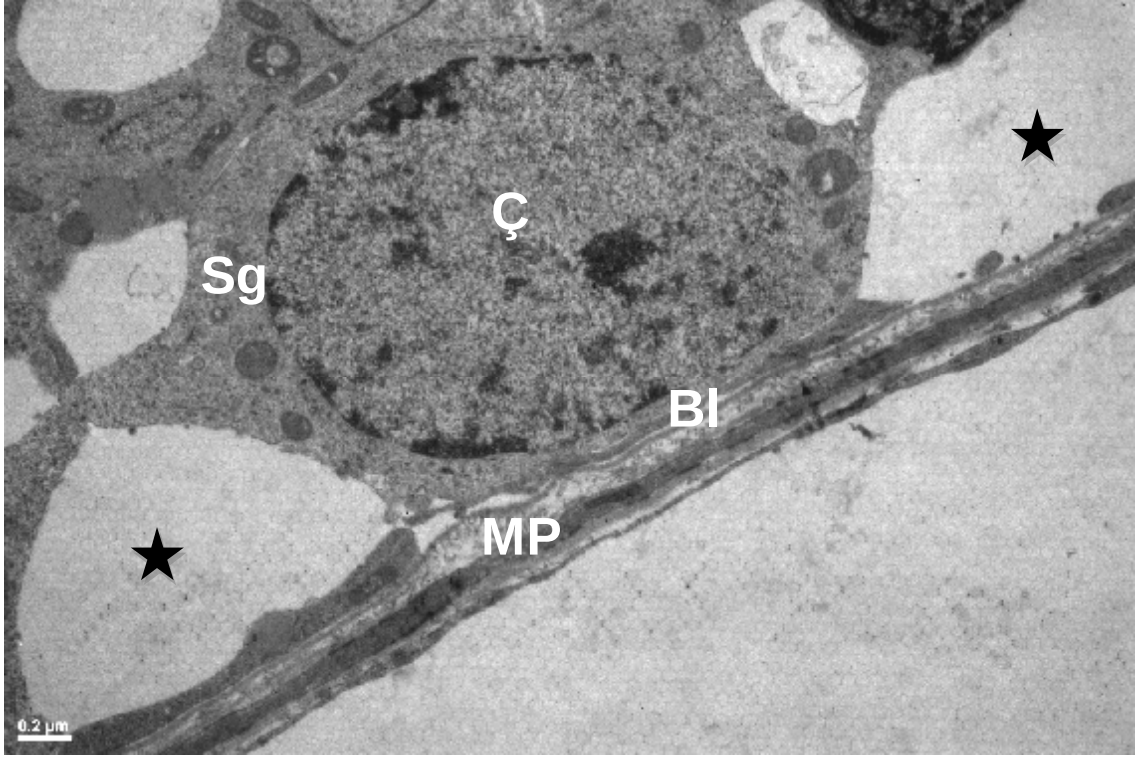
Şekil 14. Medulla spinalis yaralanmasından 7 gün sonra. Seminiferöz tübülde yer alan spermatidlerin (St) bazılarının çift çekirdekli olduğu (ok), bazı spermatidlerde (St) akrozomal vezikülde yapısal bozuklukların (ok başları) olduğu dikkati çekmektedir.



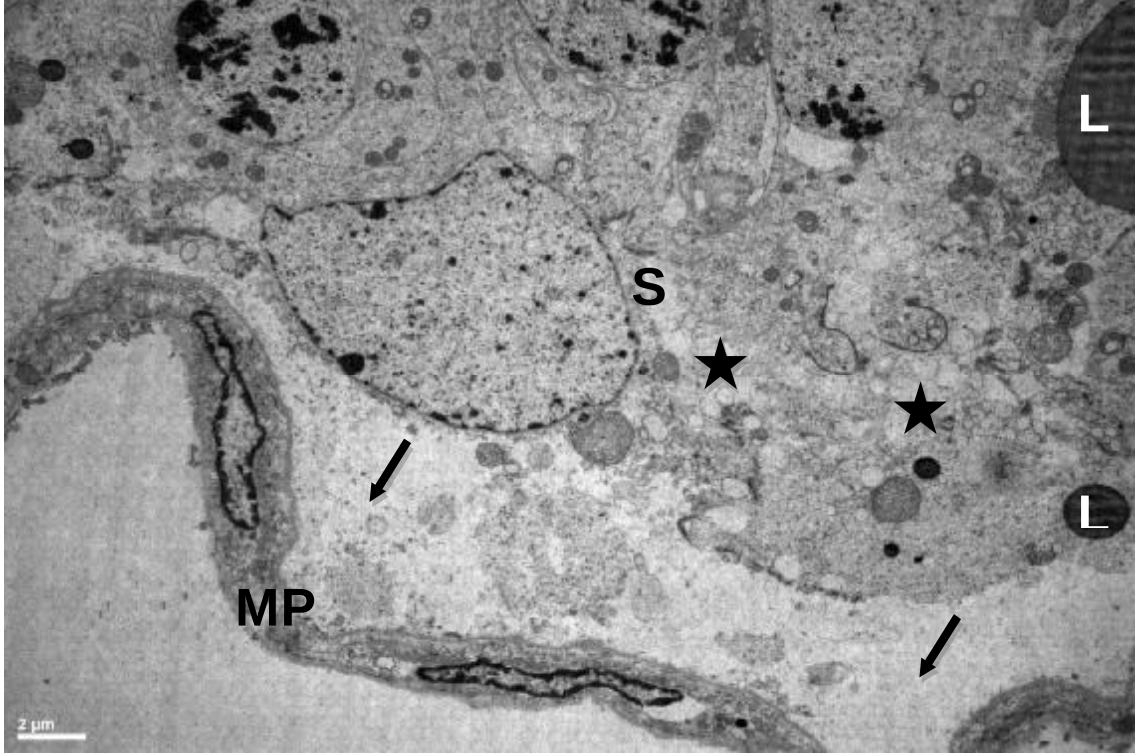
Şekil 15. Medulla spinalis yaralanmasından 14 gün sonra. Seminiferöz tübülü çevreleyen membrana propria (MP) tabakasının belirgin olarak kalınlaştığı dikkati çekmektedir. Bazal laminanın (BI) ondüveli bir şekil aldığı gözlenmektedir. Membrana propria ile tübül epiteli arasında geniş aralıkların (*) oluştuğu görülmektedir. Myoid hücre (My), kollajen lifler (Kol), Sertoli hücresi (S), çekirdek (Ç), çekirdekçik (ok), mitokondriyonlar(m), agranüler endoplazmik retikülüm (Ser) gösterilmiştir.



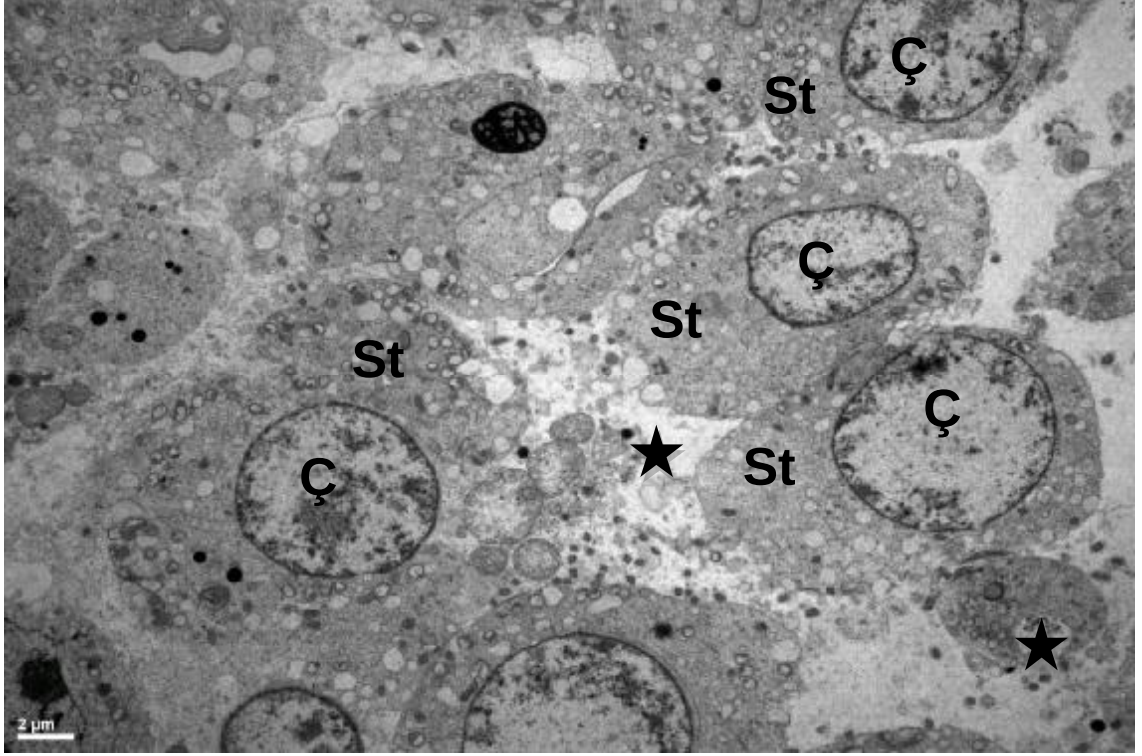
Şekil 16. Medulla spinalis yaralanmasından 14 gün sonra. Seminiferöz tübülde membrana propria (MP) ve seminiferöz epitel izlenmektedir. Epitelde Sertoli hücrelerinin (S) elektron densliğinde artış, sitoplazmada litik alanlar ve lipid damlacıkları (L), Sertoli hücreleri (S) ile spermatogoniumlar (Sg) arasında hücreler arası alanlarda genişleme (*) izlenmektedir. Spermatositler (Sp), çekirdek (Ç) gösterilmiştir.



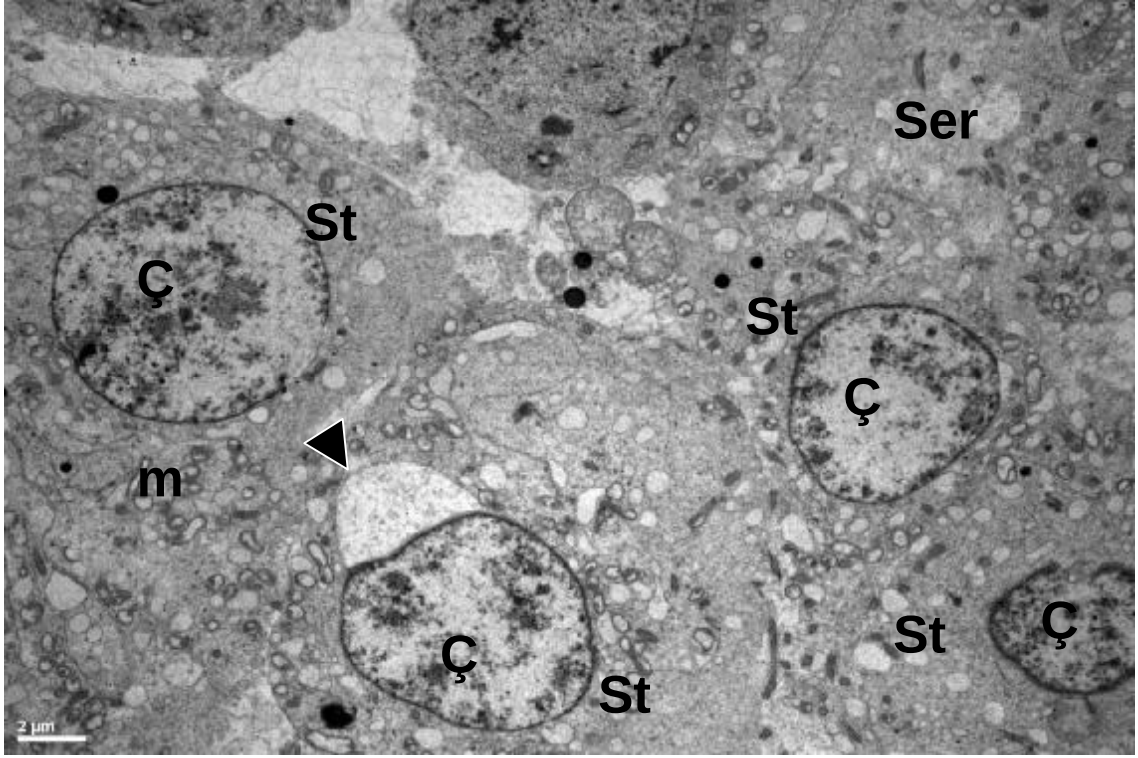
Şekil 17. Medulla spinalis yaralanmasından 14 gün sonra. Seminiferöz tübülü çevreleyen membrana propria (MP) nispeten normal yapıda gözlenmekle birlikte seminiferöz epitelde bazal lamina (Bl) üzerine oturan spermatogoniumların (Sg) birbirinden ayrıldıkları ve aralarında geniş boşlukların oluştuğu (*) dikkati çekmektedir.



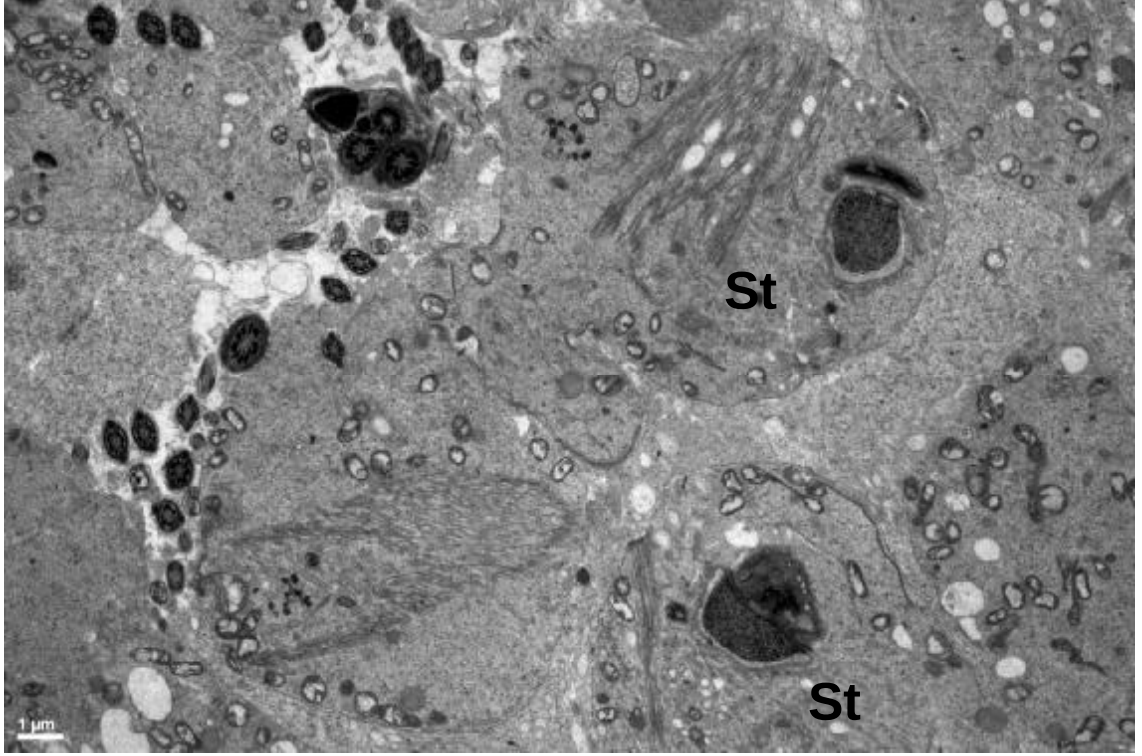
Şekil 18. Medulla spinalis yaralanmasından 28 gün sonra. Seminiferöz epitelde membrana proprianın (MP) kıvrıntılı bir şekil aldığı, kalınlığının nispeten arttığı, membrana propria ve seminiferöz epitel arasında geniş boşlukların (ok) oluştuğu dikkati çekmektedir. Sertoli hücrelerinde (S) sitoplazmada litik alanlar, sitoplazmik vakuolizasyon (*) ve iri lipid damlacıkları (L) izlenmektedir.



Şekil 19. Medulla spinalis yaralanmasından 28 gün sonra. Seminiferöz epitelde spermatidler (St) arasında hücresel atıkların bulunduğu geniş alanlar (*) dikkati çekmektedir. Spermatid (St), çekirdek (Ç) gösterilmiştir.



Şekil 20. Medulla spinalis yaralanmasından 28 gün sonra. Seminiferöz epitelde spermatidlerin (St) bazılarında akrozomal vezikül dejenerasyonu (ok başı), sitoplazmada vakuolizasyon dikkati çekmektedir. Çekirdek (Ç), mitokondriyonlar (m) ve genişlemiş agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları (Ser) gösterilmiştir.



Şekil 21. Medulla spinalis yaralanmasından 28 gün sonra. Seminiferöz epitelde gelişme bozukluğu gösteren spermatidler (St) izlenmektedir.

5. TARTIŞMA

Deneysel medulla spinalis tam kesisinin testis üzerine etkilerinin incelendiği bu çalışmada, kesi sonrası testiste membrana propria ve bazal lamina kalınlığında artma, Sertoli hücreleri ve spermatogenik hücrelerde yapısal değişiklikler ile serum testosteron, LH ve FSH düzeylerinde bozukluklar gözlemlendi. Kesi sonrası ultrastrüktürel değişikliklerin 3. günde başladığı ve hücresel dejenerasyonun daha sonraki günlerde de giderek arttığı bulundu.

Günümüzde önemli bir sağlık sorunu olan erkek infertilitesinin sebeplerinin ortaya çıkarılması amacıyla testis üzerine pek çok araştırmalar yapılmış^{2,4,6,8,23-25}, bu araştırmaların sonucunda kimyasal ajanlar²⁶, çevresel faktörler^{25,27}, hormonal bozukluklar²⁸, enfeksiyonlar²⁹, varikosel²⁴, inmemiş testis³⁰ gibi patolojilerin erkekte infertilite nedeni olabileceği rapor edilmiştir. Ayrıca kimyasal maddelere maruz kalma³¹, sigara kullanımı⁶, alkol tüketimi⁷ ve sıcaklık artışı⁸ gibi diğer etkenlerin de testis yapı ve fonksiyonunu etkileyebileceği belirtilmiştir. Bunların yanında, özellikle son 30 yıldan bu yana dünyada ve ülkemizde motorlu taşıt kazalarındaki artışa paralel olarak, medulla spinalis yaralanmalarının sıklığında dikkat çekici bir artışın meydana geldiği, buna bağlı olarak da vücutta kısmi veya tam felç durumuna kadar değişen sağlık sorunlarının ortaya çıktığı bilinmektedir. Ateşli yaralanmalar, yüksekten düşme, mekanik yaralanmalar, iş ve ev kazaları sonucunda da medulla spinalis yaralanmalarının olduğu kaydedilmiştir^{32,33}. Medulla spinalisin transeksiyonunda lezyon seviyesinin aşağısında bütün duysal ve istemli hareketlerin tam kaybı ile sonuçlanmaktadır¹¹. Dolayısıyla yaralanmanın seviyesine ve yaralanma şiddetine bağlı olarak farklı düzeylerde etkilenmelerin ortaya çıktığı gösterilmiştir^{12,13}. Yaralanma sonrasında lezyon şiddetine bağlı olarak erkeklerde ciddi üreme problemlerinin ortaya çıktığı, buna bağlı olarak da fertilizasyon sorunlarının olduğu bilinmektedir¹⁰. Erkeklerde medulla spinalis yaralanmasına bağlı infertilitenin, anormal spermatogenezis, epididimis ve aksesuar bezlerde fonksiyon bozukluğuna bağlı olabileceği ileri sürülmüştür^{13,34}. Gerçekten de kesi sonrası testiste sperm üretiminde bozulma ve ciddi

ejakülasyon sorunlarının olduğu rapor edilmiştir¹⁰. Yaralanmaya bağlı olarak semen içerisinde sperm sayısında azalma ile birlikte, semen kompozisyonunda da bozuklukların meydana geldiği gösterilmiştir³⁵. Yapılan çalışmalarda medulla spinalis yaralanmasını takiben, seminiferöz tübüllerde spermatogenezin %60-90 oranında etkilendiği, buna bağlı olarak da sperm üretiminde bozuklukların olduğu bildirilmiştir^{36,37}. Çalışmamızda deneysel olarak sıçanlarda torakal 7-9 seviyesinde oluşturulan medulla spinalis kesisinden 1 gün sonra alınan testis dokularında yapısal bir bozukluğun oluşmadığı ancak 3.günde seminiferöz tübüllerde Sertoli hücreleri, spermatogenik hücreler ve Leydig hücrelerinde hafif hücresel değişikliklerin olduğu (Şekil 7, 9,10), buna karşın 7 gün sonra membrana propria duvarında kalınlaşma, bazal laminanın ondüveli şekil alması ve Sertoli hücreleri ile spermatogenik hücrelerde ileri dejeneratif değişikliklerin meydana geldiği dikkati çekti (Şekil 11-13). Leriche ve arkadaşları³⁸ medulla spinalis yaralanması sonrası insanda seminiferöz epitelde belirgin yapısal bozuklukların olduğunu rapor etmişler, Linsenmeyer ve arkadaşları³⁹ da, torakal 9 seviyesinde medulla spinalis kesisini takiben, 2-4 hafta sonra seminiferöz epitelde belirgin yapısal değişikliklerin meydana geldiğini bildirmişlerdir. Huang ve arkadaşları¹² da, yaralanmayı takiben semende bulunan sperm sayısının belirgin olarak azaldığını, testis biyopsilerinde spermatogenezin durması, spermatogenik hücre sayılarında azalma ve seminiferöz epitelde gerileme gibi ciddi yapısal bozuklukların olduğunu kaydetmişlerdir. Bununla birlikte literatürde yaralanma sonucunda etkilenen hücre tipleri ve dejenerasyonun derinliği hakkında çelişkili bilgiler verilmiş olup, farklı sonuçların ortaya çıkmasının nedeninin testis biyopsisinin zamanlaması ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir¹². Bizim çalışmamızda da gösterildiği gibi bütün bu bulgular, medulla spinalis kesisi sonrası testiste spermatogenezin olumsuz yönde etkilendiğini göstermektedir.

Testisin sempatik sinir beslenmesi medulla spinaliste T 10-12 seviyesinden sağlanmakta olup⁴⁰, yetişkin sıçanlarda, testis esas olarak testiküler arteri izleyen süperior spermatik sinir ile inferior testiküler ligament boyunca uzanan, inferior spermatik sinirler tarafından beslenmektedir^{41,42}. Huo ve arkadaşları⁴³ testiküler denervasyonun seminiferöz tübül gelişimi ve

spermatogenez üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, denervasyon sonrası testis kitlesinde ve serum testosteron düzeyinde azalma ile epididimiste sperm sayısında düşmenin meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca denervasyona bağlı olarak seminiferöz tübül epitelinde spermatidlerde ve interstisyumda da Leydig hücrelerinde apoptozun arttığını belirtmişlerdir⁴³. Campos ve arkadaşları⁴⁴ da testis denervasyonunun immatür sıçanlarda Leydig hücrelerinin androjen üretimini bozduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda medulla spinalis kesisini takiben 3 ve 7. günlerde elde edilen testis örneklerinde, Leydig hücrelerinde agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarının genişlediği ve sitoplazmanın vakuoler bir görünüm aldığı dikkati çekti (Şekil 10). Ayrıca serum testosteron seviyesinin 1. günden itibaren keskin bir düşüş gösterdiği, azalmanın 3, 7 ve 14. günlerde de devam ettiği, 28. günde ise en düşük düzeyde olduğu gösterildi (Tablo 1).

Hipotalamo-hipofiziyal-testiküler hormonal yolun normal sperm üretimi için gerekli olduğu kabul edilmekle birlikte¹¹, medulla spinalis kesisi sonrasında hormonal düzeylerde meydana gelen değişikliklerin, testiste hücresel seviyedeki değişikliklerden sorumlu olup olmadığı günümüzde hala tam açık değildir.

Ver Voort⁹ medulla spinalis yaralanmasını takiben quadriplejik hastalarda testosteron, FSH ve LH seviyelerinde akut bir azalmanın oluştuğunu rapor etmiştir. Huang ve arkadaşları¹² da medulla spinalis yaralanmasını takiben 1. haftada LH ve testosteron seviyesinde belirgin bir azalmanın meydana geldiğini göstermişlerdir. Araştırmacılar, aynı zamanda yaralanmayı takiben 3. günde serum FSH düzeylerinde de geçici olarak, anlamlı düzeyde bir azalmanın meydana geldiğini rapor etmişlerdir¹². Bütün bu sonuçlar medulla spinalis kesisini takiben akut olarak geçici bir süreyle hipotalamo-hipofiziyal-testiküler hormonal yolun etkilendiğini göstermektedir. Gerçekten de çalışmamızda testosteron seviyesinin kesiyi takiben 28. güne kadar azaldığı görülmekle beraber (Tablo 1), serum LH ve FSH düzeylerinin 14. günden sonra tekrar yükselmeye başladığı (Tablo 2 ve 3) dikkati çekmektedir. Hormon düzeylerinin, önceki çalışma sonuçlarına göre, daha uzun süreli olarak düşüş göstermesinin, yaralanmanın şiddetiyle ilişkili olabileceği söylenebilir. İnsanlarda medulla spinalis yaralanması sonrası hipotalamo-hipofiziyal-testis yolundaki

etkilenmenin lezyonun şiddeti ile ilişkili olduğu, paraplejik hastalarda testosteron, FSH ve LH düzeylerinin 6 hafta süreyle değişikliğe uğradığı, tetraplejik hastalarda bu sürenin 4 ay'a kadar uzayabildiği rapor edilmiştir⁴⁵.

Spermatogenezin gerçekleşmesinde Sertoli hücrelerinin desteğinin yanında, FSH, LH ve testosteron hormonlarının gerektiği yaygın olarak kabul edilmektedir⁴⁶. Hormon seviyesinde bir bozulma veya yetersizlik, spermatogenezin herhangi bir aşamasında yetersizliğine sebep olacaktır¹². Medulla spinalis yaralanması sonrası, kısa süreli olarak hipotalamo-hipofiziyal-testiküler hormon yolunda bir bozulmanın meydana gelmesinin, Sertoli hücre fonksiyonlarını bozabileceği, dolayısıyla da spermatogenezi olumsuz yönde etkileyeceği açıktır¹².

Yaralanmayı takiben erkeklerde gözlenen testiküler atrofinin strese bağlı faktörler ile de ilişkili olabileceği yaygın olarak kabul edilmektedir⁴⁷. Strese bağlı olarak ACTH ve kortizol seviyeleri anlamlı olarak artmaktadır. Yüksek seviyede bulunan kortizol, hipofiz bezinde gonadotropların gonadotropin tetikleyici hormona (GnRH) yanıtını ve testiste de Leydig hücrelerinin LH'a duyarlılığını azaltarak testosteron düzeyini düşürmektedir. Ayrıca stres sırasında salgılanan prolaktin ve beta endorfinin de, testosteron sekresyonunun azalmasında etkili faktörler oldukları düşünülmektedir. Gerçekten de medulla spinalis yaralanması sonrası hastalarda prolaktin seviyesinin belirgin olarak yükseldiği, buna bağlı olarak testiküler yetersizliğin geliştiği rapor edilmiştir⁴⁸. Dolayısıyla yaralanma sonucu oluşan stresle beraber testosteron seviyesinin azalması spermatogenezisi olumsuz yönde etkileyecektir. Nitekim Collu ve arkadaşları⁴⁹, medulla spinalis yaralanması sonrasında oluşan uzun süreli stres ortamının hipotalamo-hipofiziyal-testiküler yolu olumsuz yönde etkilediğini belirtmişlerdir.

Testiküler fonksiyonun nörohormonal kontrolü dışında, direkt olarak nöral yolla da kontrol edilebileceği düşünülmektedir. Nitekim Lee ve arkadaşları²⁸ transnöronal işaretleme tekniği kullanarak beyin ile testis arasında nöral bir yolun bulunduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar beyinden başlayan nöral yolun medulla spinalis boyunca ilerlediğini ve testise ulaştığını ve Leydig hücre fonksiyonlarını düzenlediğini ileri sürmüşlerdir²⁸. Bu nedenle, medulla spinalis

yaralanması sonrasında testosteron seviyesinde azalma, buna bağlı olarak spermatogenezin olumsuz yönde etkilenmesinin, hormon yolu yanında, beyin-testis arasındaki nöral iletimin bozulmasına bağlı olarak da meydana gelebileceği söylenebilir.

Torakal 10-12 seviyesinden çıkan ve testisleri innerve eden sempatik liflerin transeksiyonu, testisleri de içeren vücudun alt kısmındaki damarlarda büyük oranda vazodilatasyona neden olmaktadır. Damarlardaki vazodilatasyon, ısıyı arttırarak, sırasıyla, spermatogenezde azalma, bazal lamina ve damar endotelinde dejenerasyona neden olmakta ve sonuçta seminiferöz tübüllerde hasar meydana gelmektedir. Ayrıca hipertermiye bağlı olarak seminiferöz tübülde sıvı artışı oluşmakta ve spermatogenez olumsuz yönde etkilenmektedir. Perkash ve arkadaşları¹³ medulla spinalis yaralanması sonrası testiste hiperterminin oluştuğunu, Leydig hücrelerinin genellikle normal yapılarını korumalarına rağmen, seminiferöz tübüllerin bütünlüğünün bozulduğu, epitelde mitotik aktivitede azalma ve buna bağlı olarak da hücre sayısında düşme ve tübüler fibrozis ile birlikte spermatogenezde değişik derecelerde kesintinin meydana geldiğini rapor etmişlerdir.

Sonuç olarak merkezi sinir sisteminde oluşan rejenerasyonun sınırlı olduğu bilinmektedir. Bu nedenle medulla spinalisdeki travmatik hasarlar kalıcı nöronal kayıplara neden olmaktadır. Medulla spinalis yaralanması sonucunda seminiferöz epitelde farklı derecelerde yapısal anormalliklerin oluştuğu yaygın olarak kabul edilmektedir^{12,36,37,39,43}. Yaralanma sonrası testiste Sertoli hücreleri ve spermatogenik hücrelerde dejeneratif değişikliklerin oluşması hipofizial-testiküler hormonal yolun fonksiyonu ile ilişkilendirilmiştir¹². Sunulan çalışmada, torakal 7-9 seviyesindeki medulla spinalis kesisi sonucu testis ultrastrüktürel düzeyde incelenmiş ve oluşan yapısal dejenerasyonlar gösterilmiştir. Medulla spinalis kesisinin spermatogenez üzerindeki akut etkisinin hormon eksikliğine bağlı olabileceği, yaralanmanın kronik fazı boyunca gözlenen anormal spermatogenez ve seminiferöz epitel gerilemesinin altında daha çok nörojenik mekanizmaların yattığı düşünülmektedir. Fertiliteyi olumsuz yönde etkileyen testiküler dejenerasyonların, medulla spinaliste oluşan nörolojik hasarlardan kaynaklanabileceğini, dolayısıyla nöral-hipotalamik-testiküler bir yolun varlığını

düşündürdüğünü ancak bu konuda daha ileri çalışmaların yapılması gerektiğini göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Deneysel medulla spinalis tam kesisinin testis üzerine etkilerinin incelendiği bu çalışmada, yaralanmadan 1, 3, 7, 14 ve 28. günlerde alınan testis doku örnekleri elektron mikroskopik düzeyde incelenmiştir. Aynı zamanda deneklerden kan örnekleri alınarak serumda testosteron, LH ve FSH seviyeleri de araştırılmıştır. Elde edilen bulgular değerlendirilerek aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

1- Kesiden 1 gün sonra alınan kan örneklerinde testosteron seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı, 3, 7 ve 14. günlerde azalmanın sürdüğü, 28. günde hormon seviyesinin en düşük düzeyde bulunduğu gösterildi.

2- Kesiyi takiben LH seviyesinin 1. günde anlamlı olarak azaldığı, 3, 7 ve 14. günde azalmanın sürdüğü, 28. günde hormon seviyesinin tekrar yükselmeye başladığı bulundu.

3- FSH seviyesinin, kesiden 1 ve 3 gün sonra alınan kan örneklerinde belirgin olarak azaldığı, 7,14 ve 28. günlerde hormon seviyelerinin her üç grupta da tekrar kontrol grubu düzeyine ulaştıkları gözlemlendi.

4- Bu çalışmada, torakal seviyedeki medulla spinalis kesisi sonucu testis ultrastrüktürel düzeyde incelenmiş ve oluşan yapısal dejenerasyonlar ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

5- Medulla spinalis yaralanmasının birinci gününde belirgin yapısal değişiklik görülmemekle birlikte hasar süresi uzadıkça hücresel dejenerasyonun arttığı dikkati çekti.

6- 3. günde Sertoli hücrelerinin sitoplazmasında hafif vakuolizasyon, lipofuksin granülleri ve iri lipid damlacıkları gözlemlendi. Ayrıca Leydig hücrelerinde agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarında genişlemeye bağlı vakuolizasyon izlendi.

7- Kesiden 7 gün sonra membrana propria duvarında kalınlaşma, bazal laminanın ondüleli bir şekil alması, kollajen lif miktarında artma ile Sertoli hücrelerinde ve spermatidlerde yapısal bozuklukların varlığı dikkati çekti.

8- Kesiyi takiben 14 ve 28 gün sonra alınan testislerde, Sertoli hücrelerinde çekirdekte piknotik değişiklikler, sitoplazmada ileri derecede vakuolizasyon ve lizis, spermatidlerde yapısal bozukluklar, membrana propriada ondüleli şekil alma ve kollajen liflerde artış gibi dejeneratif değişikliklerin belirgin olarak arttığı gözlemlendi.

9- Medulla spinalis transseksiyonunun spermatogenez üzerindeki akut etkisinin hormon eksikliğine bağlı olabileceği, yaralanmanın kronik fazı boyunca gözlenen anormal spermatogenez ve seminiferöz epitel gerilemesinin altında daha çok nörojenik mekanizmaların yattığı düşünülmektedir.

10- Fertilitiyi olumsuz yönde etkileyen testiküler dejenerasyonların, medulla spinaliste oluşan nörolojik hasarlardan kaynaklanabileceği, dolayısıyla nöral-hipotalamik-testiküler bir yolun varlığını düşündürdüğünü ancak bu konuda daha ileri çalışmaların yapılması gerektiğini göstermektedir.

7.KAYNAKLAR:

1. **Huang HF, Li MT, Wang S, Wang G and Ottenweller JE.** Spinal Cord Contusion Impairs Sperm Motility in the Rat Without Disrupting Spermatogenesis. *Journal of Andrology*, May/June **2003** Vol. 24, No. 3.
2. **Chigurupati S, Son TG, Hyun DH, Lathia JD, Mughal MR, Savell J, Li SC, Nagaraju GP, Chan SL, Arumugam TV, Mattson MP.** Lifelong running reduces oxidative stress and degenerative changes in the testes of mice. *J Endocrinol.* **2008** Nov;199(2):333-41. Epub 2008 Aug 13.
3. **Kaya M, Türkyılmaz R.** An ultrastructural study on the presence of various types of crystals in the infertile human testis. *Anat Embryol*, **1985**; 172: 217 – 225.
4. **Kaya M.** Sertoli cells and various types of multinucleates in the rat seminiferous tubules following temporary ligation of the testicular artery. *J Anat*, **1986**; 144: 15-29.
5. **Joshi SC, Mathur R, Gulati N.** Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. *Toxicol Ind Health.* **2007** Aug;23(7):439-44.
6. **Aydos K, Güven MC, Can B and Ergün A.** Nicotine toxicity to the ultrastructure of the testis in rats. Departments of Urology, Histology and Embryology, and ²Physiology, School of Medicine, University of Ankara, Turkey. *BJU International* **2001**; 88, 622±626.
7. **Muthusami KR, Chinnaswamy P.** Effect of chronic alcoholism on male fertility hormones and semen quality.; *Fertil Steril.* **2005** Oct;84(4):919-924.
8. **Aktas C, Kanter M.** A morphological study on Leydig cells of scrotal hyperthermia applied rats in short-term. *J Mol Hist* **2009**; 40:31–39.
9. **Ver Voort SM.** Infertility in spinal-cord injured male. *Urology.* **1987** Feb; 29(2):157-65. Review.
10. **Fin Biering-Sørensen and Jens Sonksen.** Sexual function in spinal cord lesioned men. *International Medical Society of Paraplegia*, **2001**; 39, 455–470.
11. **Brackett NL, Nash MS, Lynne CM.** Male fertility following spinal cord injury: facts and fiction. *Phys Ther.* **1996** Nov;76(11):1221-31.
12. **Huang HF, Linsenmeyer TA, Li MT, Giglio W, Anesetti R, Von Hagen J, Ottenweller JE, Serenas C, Pogach L.** Acute effects of spinal cord injury on the pituitary-testicular hormone axis and Sertoli cell functions: a time course study. *J Androl.* **1995** Mar-Apr;16(2):148-57.
13. **Perkash I, Martin DE, Warner H, Blank MS and Collins DC.** Reproductive biology of paraplegics: Results of semen collection, testicular biopsy and serum hormone evaluation. *The Journal of Urology*, **1985**; 134:284-287.
14. **Huang HF, Wang S, Molina CA, Ottenweller JE.** Preservation of spermatogenesis in spinal cord injured rats with exogenous testosterone. Relationship with serum testosterone levels and cellular localization of cAMP responsive element modulator. *J Androl.* **2004** Jan-Feb;25(1):95-103.

15. **Kaya M, Polat S, Mete UÖ, Tap Ö, Özgür H.** Özel Histoloji Ders Notları. Adana, Ç.Ü. Tıp Fakültesi Yayınları, **2006**;156-161.
16. **Ross MH, Pawlina W.** Histology A Text And Atlas. 6th Ed. *Baltimore, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins*, **2011**; 784-816.
17. **Fawcett DW.** The cell: An atlas of fine structure, *Philadelphia, London, W.B.Saunders Company*, **1966**.
18. **Leeson CR, Leeson TS.** Histology, 4.baskı, *Philadelphia, London, Toronto, W.B. Saunders Company*, **1981**.
19. **Abraham L.** Üreme Sistemi. Demir R. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. 1. Baskı, Ankara: *Palme Yayıncılık*, **2006**; 531-564.
20. **Junquera LC, Carneiro J, Kelley RO.** Erkek Üreme Sistemi. Aytekin Y, Solakoğlu S. Temel Histoloji. 1. Baskı, İstanbul : *Nobel Tıp Kitapevleri*, **2005**; 431-448.
21. **Kaya M.** Elektron mikroskopi teknikleri. Ç.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi, **1984**; 9 (1) ; 1-21.
22. **Milloning G.** Advantages of a phosphate buffer for OsO4 solutions in fixation. *J App Phy* **1961**; 32-1637.
23. **Kaya M, Harrison RG.** An analysis of the effect of ischaemia on testicular ultrastructure. *J Pathol.* **1975**; 117: 105-117.
24. **Özgür H, Kaya M, Doran Ş, Solmaz S.** Ultrastructure of the seminiferous tubules in human testes before an after varicocelelectomy. *Anat Embryol.* **2003**; 207: 343–353.
25. **Varisli O, Uguz C, Agca C, Agca Y.** Various physical stress factors on rat sperm motility, integrity of acrosome, and plasma membrane. *J Androl.* **2009** Jan-Feb;30(1):75-86. Epub **2008** Aug 21.
26. **Chen HY, Wang SM, Peng RY, Gao YB, Wang LF, Zhao L, Zuo HY, Dong J, Su ZT.** Long-term microwave radiation affects male reproduction in rats. *Zhonghua Nan Ke Xue.* **2011** Mar;17(3):214-8.
27. **Eskiocak S, Gozen AS, Taskiran A, Kilic AS, Eskiocak M, Gulen S.** Effect of psychological stress on the L-arginine-nitric oxide pathway and semen quality.; *Braz J Med Biol Res.* **2006** May;39(5):581-588.
28. **Lee S, Miselis R and Rivier C.** Anatomical and functional evidence for a neural hypothalamic-testicular pathway that is independent of the pituitary. *Endocrinology* **2002** 143:4447-4454, doi: 10.1210/en.2002-220392.
29. **Mills RG.** , The pathological changes in the rat testes in epidemic pneumonia. *J Exp Med*, **1919**; 30: 505 – 529.
30. **Mininberg DT, Rodger JC and Bedford M.** Ultrastructural evidence of the onset of testicular pathological conditions in the cryptorchid human testis within the first year of life. *The Journal of Urology.* **1981** December 11; 0022-5347/82/1284-0782\$02.00/0.
31. **Danadevi K , Rozati R, Reddy PP, Grover P.** Semen quality of Indian welders occupationally exposed to nickel and chromium.; *Reprod Toxicol.* **2003** Jul-Aug;17(4):451-456.
32. **Altıoklar K, Orkun S.** Travmatik parapleji ve quadripleji olguların etiyolojik değerlendirimi. *Romatizma*, **1990**;43-47

33. **Guzel R, Uysal FG.** Spinal Kord Yaralanmaları. (ed) Oğuz H. Dursun E. Dursun N Tıbbi Rehabilitasyon. 2.baskı. İstanbul : *Nobel Tıp Kitabevi* ; **2004**; 627-647.
34. **Rajasekaran M, Monga M.** Cellular and molecular causes of male Infertility in spinal cord injury. *Journal of Andrology*,**1999**; Vol. 20, No. 3.
35. **Patki P, Woodhouse J, Rizwan Hamid, Michael Craggs, Julian Shah.** Effects of Spinal Cord Injury on Semen Parameters. *Neuourology Department, London Spinal Cord Injury Centre, Royal National Orthopaedic Hospital, Middlesex, UK Received November 15, 2006*; accepted September 20, **2007**.
36. **Bors E, Engle ET, Rosenquist RC, Hollinger VH.** Fertility in paraplegic males: a preliminary report of endocrine studies. *J Clin Endocrinol Metab* **1950**; 10:381-398.
37. **Tsuji I, Nakajima F, Morimoto J, Nounaka Y.** The sexual function in patients with spinal cord injury. *Urol. Int.* **1961**; 12:270-280.
38. **Leriche A, Berard E, Vauzelle JL, Minaire P, Girard R, Archimbaud JP, Bourret J.** Histological and hormonal testicular changes in spinal cord patients. *Paraplegia* **1977**;15:274-279.
39. **Linsenmeyer TA, Pogach L, Ottenweller JE, Huang HFS.** Spermatogenesis and pituitary testicular hormone axis in rats during the acute phase of spinal cord injury. *J Urol* **1994**; 152:1302-1307.
40. **Dere F.** Anatomi Atlası ve Ders Kitabı Cilt 2. *Adana Nobel Kitabevi.* **1999**; 1005-1007.
41. **Rauchenwald M, Steers WD, Desjardins C.** Efferent innervation of the rat testis. *Biol Reprod.* **1995** May;52(5):1136-43.
42. **Zhu BC, Chiocchio SR, Suburo AM, Tramezzani JH.** Monoaminergic and peptidergic contributions of the superior and the inferior spermatic nerves to the innervation of the testis in the rat. *J Androl* **1995**; 16:248-258.
43. **Huo S, Xu Z, Zhang X, Zhang J, Cui S.** Testicular denervation in prepuberty rat inhibits seminiferous tubule development and spermatogenesis. *J Reprod Dev.* **2010** Aug;56(4):370-8. Epub **2010** Apr 14.
44. **Campos MB, Chiocchio SR, Calandara RS, Ritta MN.** Effect of bilateral denervation of the immature rat testis on testicular gonadotropin receptors and in vivo androgen production. *Neuroendocrinology* **1993**;57:189-194.
45. **Naftchi NE, Viau AT, Sell GH, Lowman EW.** Pituitary-testicular axis dysfunction in spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil.* **1980**;61:402-405.
46. **Fawcett DW.** Ultrastructure and function of the Sertoli cell. In: *Hamilton DW, Greep RO, eds. Handbook of physiology. Sect 7, Vol V. Baltimore, Maryland: Williams and Wilkins: 1975*:21-55.
47. **Huang HFS, Linsenmeyer TA, Anesetti R, Giglio W, Ottenweller JE, Pogach L.** Supression and recovery of spermatogenesis following spinal cord injury in the rat. *J Androl.* **1998**;19:72-80.
48. **Young RJ, Strachan RK, Seth J, Nicol K, Frier BM, Corral RJ.** Is testicular endocrine function abnormal in young men with spinal cord injuries? *Clin Endocrinol (Oxf)*.**1982**;17:303-306.

49. **Collu R, Gibb W, Ducharme JR.** Role of catecholamines in the inhibitory effect of immobilization stress on testosterone secretion in rats. *Biol Reprod.* **1984**;30:416-422.

8.ÖZGEÇMİŞ

Feray Farsak 1985 yılında Ceyhan'da doğdu. İlkokulu Ceyhan'da Remzi Oğuz Arık ilköğretim okulunda bitirdikten sonra ortaokulu Adana Özel Gönen Lisesinde, lise eğitimini de Adana Özel Bilfen Lisesinde tamamladı. 2004 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandı ve 2008 yılında mezun oldu. Aynı yıl Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Eğitimine başladı ve halen aynı Anabilim Dalında eğitim-öğretimini sürdürmektedir.