

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEK TARAFLI TESTİS TORSİYONUNDA KARŞI TESTİSTE
TESTİKÜLER ANJİYOTENSİN DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM
AKTİVİTESİNDEKİ DEĞİŞİMLERİN
HİSTOLOJİK ve HİSTOŞİMİK
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

H. BANU UYSAL ÖZEL

ELAZIĞ – 2009

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Emine ÜNSALDI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Enver OZAN

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Enver OZAN

Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

Sevgili Aileme...

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan danışman hocam Prof. Dr. Enver OZAN'a tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı teşekkür ederim. Yine her konuda yardımlarını hissettiğim, tez çalışmama katkıda bulunan hocalarım Prof. Dr. Leyla CANPOLAT KOYUTÜRK'e, Doç. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU CAMCI'ya, Yrd. Doç. Dr. D. Özlem DABAK'a ve elektron mikroskop çalışmalarında desteğini gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Mehmet GÜL'e, arkadaşlarım Uzm. Dr. Tuncay KULOĞLU, Araş. Gör. Dr. Yeşim ÖZDEMİR, Araş. Gör. Dr. Yahya AKALIN, Araş. Gör. Dr. Zübeyde ÇALIŞKAN ve Stj. Dr. Erkam CAYMAZ'a, destek ve yardımlarını benden esirgemeyen eşim Doç. Dr. Ş. Kerem ÖZEL'e ve aileme teşekkür ederim.

Ayrıca sağladığı finansmandan ötürü de Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP)'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Testis Embriyolojisi	6
3.2. Testis Anatomisi	10
3.3. Testis Histolojisi	12
3.4. Spermatogenez	16
3.5. Testis Torsiyonu	18
3.6. Klasik Renin-Anjiyotensin Sistem	19
3.7. Lokal Renin-Anjiyotensin Sistem	21
3.8. sACE ve tACE	25
4. GEREÇ ve YÖNTEM	29
4.1. İmmünohistokimya	31
4.2. Elektron Mikroskop	32
4.3. İstatistiksel Analiz	32
5. BULGULAR	34
5.1. Işık Mikroskopik Bulgular	34
5.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	35
5.3. Elektron Mikroskopik Bulgular	37
6. TARTIŞMA ve SONUÇ	67
7. KAYNAKLAR	78
8. ÖZGEÇMİŞ	91

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1: Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin terkibi.	29
Tablo 2: İmmunohistokimyasal boyama prosedürü.	33
Tablo 3: Tek taraflı testis torsiyonundan sonra karşı testislerdeki ortalama tACE immunreaktivite şiddetleri.	36

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1: Embriyoda genital kabarıklık bölgesi.	8
Şekil 2: Primordiyal germ hücrelerinin vitellüs kesesinden genital kabarıklığa göçü.	8
Şekil 3: İnsan testisinin midsagittal kesiti.	11
Şekil 4: Testis dokusu kesitinde seminifer tübüller ve Leydig hücrelerinin histolojik görüntüsü.	13
Şekil 5: İnsan seminifer epitelinin şematik çizimi.	15
Şekil 6: Tek taraflı testis torsiyonundan sonra karşı testislerdeki tACE immunreaktivite şiddetleri.	37
Şekil 7: Grup I. Testis dokusunda seminifer tübül kontürleri ve tunika albugineanın normal olarak gözlendiği bir kesit.	39
Şekil 8: Grup I. Normal olarak izlenen seminifer tübül germinal epitelleri.	39
Şekil 9: Grup I. Normal olarak izlenen Leydig hücreleri.	40
Şekil 10: Grup I. Normal olarak izlenen seminifer tübül bazal membranları.	40
Şekil 11: Grup II. Normal olarak gözlenen seminifer tübülleri.	41
Şekil 12: Grup II. Normal olarak gözlenen germinal epitel ve Leydig hücreleri.	41
Şekil 13: Grup II. Normal olarak izlenen seminifer tübül bazal membranları.	42
Şekil 14: Grup III. Kontrole yakın görünümde bir seminifer tübül.	42
Şekil 15: Grup III. Vakuolizasyon ve piknotik çekirdekli germ hücresi izlenen seminifer tübülleri.	43
Şekil 16: Grup III. Dejenere olmuş bir seminifer tübülde piknotik çekirdekli ve heterokromatik germ hücreleri, germ hücreleri arasında ayrılmalar ve lümene dökülmüş germ hücreleri.	43
Şekil 17: Grup III. Sıkıca paketlenmiş bir grup seminifer tübül.	44

Şekil 18: Grup III. Normal yakın olarak gözlenen seminifer tübül bazal membranları.	44
Şekil 19: Grup IV. Sıkıca paketlenmiş seminifer tübüller.	45
Şekil 20: Grup IV. Tunika albuginea altındaki damarlarda gözlenen konjesyon ve hiperemi.	45
Şekil 21: Grup IV. Germ hücreleri arasında ayrılmalar gözlenen seminifer tübüller.	46
Şekil 22: Grup V. Sıkıca paketlenmiş bazı seminifer tübüller.	46
Şekil 23: Grup V. Dejeneratif görünümde olan seminifer tübüller.	47
Şekil 24: Grup V. Germ hücreleri arasında ayrılmalar.	47
Şekil 25:Grup V. Germ hücreleri arasında ayrılmalar, germ hücrelerinin bazal membrandan ayrıldığı ve bazal membranda dejenerasyonlar gözlenen seminifer tübüller.	48
Şekil 26: Grup V. Gruplar halinde lümene dökülmüş germ hücreleri.	48
Şekil 27: Grup V. Spermatositlerde metafaz arresti izlenen bir seminifer tübül.	49
Şekil 28: GrupV. Bazı spermatogonyumların bazal membrandan ayrıldığı ve bazal membranda dejenerasyonların gözleendiği bir seminifer tübül.	49
Şekil 29: Grup VI. Hasarlı seminifer tübüller.	50
Şekil 30: Grup VI. Germ hücrelerinin aralarında ayrılmaların olduğu seminifer tübüller.	50
Şekil 31: Grup VI. Lümene dökülmüş germ hücrelerinin izlendiği seminifer tübül.	51
Şekil 32: Grup VI. Organizasyon bozukluğu ve heterokromatik çekirdekli germ hücrelerinin gözleendiği seminifer tübüller.	51

Şekil 33: Grup VI. Metafaz arresti gözlenen seminifer tübül.	52
Şekil 34: Grup VI. Bazal membranında bozulmalar ile metafaz arresti gözlenen çok sayıda spermatositin ayırt edildiği seminifer tübüller.	52
Şekil 35: Grup I. tACE immünpozitif seminifer tübüller.	53
Şekil 36: Grup I. Spermatogonyumlar, primer ve sekonder spermatositlerde immünreaktivite gözlenmeyen tACE immünpozitif seminifer tübüller.	53
Şekil 37: Grup II. tACE immünpozitif seminifer tübüller.	54
Şekil 38: Grup III. Kontrol ve deney gruplarına göre en az immünreaktivite şiddeti gözlenen seminifer tübüller.	54
Şekil 39: Grup IV. tACE immünpozitif seminifer tübüller.	55
Şekil 40: Grup V. tACE immünpozitif seminifer tübüller.	55
Şekil 41: Grup VI. tACE immünpozitif seminifer tübüller.	56
Şekil 42: Negatif kontrol.	56
Şekil 43: Grup I. Normal görünümde bazal membran.	57
Şekil 44: Grup I. Normal görünümde bir spermatogonyum.	57
Şekil 45: Grup II. Normal görünümde bir Sertoli hücresi.	58
Şekil 46: Grup I. Hücreler arası bağlantıların normal olduğu germ hücreleri.	58
Şekil 47: Grup III. Bazal membranda incelleme, hücreler arasında ayrılma ve bu alanda şekillenmekte olan myelin figürlerin izlendiği bir seminifer tübül.	59
Şekil 48: Grup III. Normal yapıda bir Sertoli hücresi.	59
Şekil 49: Grup III. İntrasitoplazmik vakuoller gözlenen tip B spermatogonyum.	60
Şekil 50: Grup III. Sitoplazmasında myelin figür şekillenmiş olan spermatid ve aralarında ayrılmalar olan germinal epitel hücreleri.	60

Şekil 51: Grup IV. Bazal membranda incelme ve sitoplazmasında vakuoller gözlenen bir Sertoli hücresi.	61
Şekil 52: Grup IV. İntrasitoplazmik vakuol gözlenen bir spermatogonyum ve spermatogonyumun bazal membrandan ayrıldığı alanda bir myelin figürün şekillendiği seminifer tübül.	61
Şekil 53: Grup IV. İntrasitoplazmik vakuolleri artmış olan bir sekonder spermatosit.	62
Şekil 54: Grup IV. Aralarında ayrılmalar, hücre membranında invajinasyonlar ve ayrılma bölgesinde bir myelin figür izlenen germ hücreleri.	62
Şekil 55: Grup V. Girinti ve çıkıntıların olduğu bir bazal membran ve dejenere golgi keselerinin izlendiği germ hücresi.	63
Şekil 56: Grup V. İntrasellüler vakuolizasyon ve hücreler arasında ayrılmaların izlendiği germinal epitel hücreleri.	63
Şekil 57: Grup V. Nukleusta kromatinin yoğunlaştığı hasarlı hücre.	64
Şekil 58: Grup V. Aralarında bağlantı kaybı ve sitoplazmasında vakuol izlenen germ hücreleri.	64
Şekil 59: Grup VI. Bazal membranında incelme gözlenen seminifer tübül. Mitokondrilerde hasar, intrasitoplazmik vakuoller ve lizozom artışı gözlenen bir primer spermatosit.	65
Şekil 60: Grup VI. intrasitoplazmik vakuol ve myelin figür izlenen, bazal membrandan ayrılmış bir spermatogonyum.	65
Şekil 61: Grup VI. Bazal membran üzerinde ve hücreler arasında gözlenen ayrılma alanları gözlenen bir seminifer tübül.	66
Şekil 62: Grup VI. Aralarında ayrılma alanları izlenen sekonder spermatositler.	66

KISALTMALAR LİSTESİ

ACE :	Anjiyotensin konverting enzim.
sACE :	Somatik anjiyotensin konverting enzim
tACE :	Testiküler anjiyotensin konverting enzim.
Ang I :	Anjiyotensin I.
Ang II :	Anjiyotensin II.
AT1 :	Anjiyotensin II tip 1 reseptörü.
AT2 :	Anjiyotensin II tip 2 reseptörü.
AMH :	Antimüllerian hormon.
ABP :	Androjen bağlayıcı protein.
FSH :	Folikül stimüle edici hormon.
SRY :	Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki cinsiyet belirleyen yöre.
TDF :	Testis belirleyen faktör geni.
PMN :	Polimorfonükleer hücreler.
ROS :	Reaktif oksijen türleri.
RAS :	Renin-Anjiyotensin sistem.
JG :	Jukstaglomerüler hücreler.
COOH :	Karboksi.
NH ₂ :	Amino.
PAS:	Periodic Acid Schiff.
LHRH :	Lüteinizan hormon salıverdirici hormon.
MDA :	Malondialdehit.
Knock-out:	Fonksiyon kaybı olan amorf bir allelin üretildiği hedefli mutasyon yöntemi.

1. ÖZET

Testis torsiyonu aynı tarafta iskemi oluşturan ve kontralateral testiste de dejeneratif değişikliklere neden olabilen patolojik bir durumdur. Testiküler angiotensin converting enzim (tACE) spermatogenez sırasında özellikle mayozun tamamlanmasından sonra ve spermiyogenez boyunca erkek germ hücrelerinde eksprese olur. tACE'in spermiyogenez ve fertilite üzerine etkisi olduğu, sperm motilitesi, kapasitasyon ve akrozom reaksiyonunda yer alabileceği bildirilmektedir. Bu çalışmada testis torsiyonunun kontralateral testiste oluşturduğu hasarın ışık ve elektron mikroskopik olarak ve tACE ekspresyonunda meydana getireceği değişimlerin immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada 36 adet erişkin Wistar cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar altı gruba ayrıldı. Grup I; Kontrol, Grup II; Testislerin alt ve üst kutuplarına dikiş konulup, 12 saat sonra dikişlerin alındığı ve 24 saat sonra testislerin çıkarıldığı sham grubu, Grup III; Sol testisin 6 saat süre ile saat yönünün tersine 720° torsiyonundan sonra sağ testisin eksize edildiği grup, Grup IV; Sol testisin aynı şekilde 6 saat torsiyonundan sonra detorsiyone edildiği ve 24 saat sonra sağ testisin eksize edildiği grup, Grup V; Sol testisin aynı şekilde 12 saat 720° torsiyonundan sonra sağ testisin eksize edildiği grup, Grup VI; Sol testisin aynı şekilde 12 saat torsiyonundan sonra detorsiyone edildiği ve 24 saat sonra sağ testisin eksize edildiği grup olarak oluşturuldu. Deney sonunda sağ testisler ışık ve elektron mikroskopik inceleme için takip edildi, tACE immünreaktivitesi ise Avidin-Biotin-Peroksidaz yöntemiyle belirlendi. Veriler uygun istatistik

programında Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Işık mikroskopik olarak incelendiğinde sağ testis dokularında dejeneratif seminifer tübüller, bu tübüllerde heterokromatik ve piknotik çekirdekli germ hücreleri, germ hücreleri arasında ayrılmalar ve bazı tübüllerde vakuolizasyon mevcuttu. Elektron mikroskopik incelemede ise bazal membranda incelme, germinal hücrelerde intrasitoplazmik vakuolizasyon ve hücreler arasında bağlantı kaybı izlendi. tACE immünreaktivite şiddetindeki değişiklikler değerlendirildiğinde, kontrol grubunda tACE immünreaktivite şiddeti 2.72 ± 0.14 , sham grubunda ise 2.71 ± 0.15 olarak saptandı. Grup III'de tACE immünreaktivite şiddeti 2.16 ± 0.16 olarak azalma gösterdi ($p<0.05$). Grup IV'de 2.38 ± 0.08 , Grup V'de 2.64 ± 0.09 , Grup VI'da 2.47 ± 0.17 olarak tespit edildi. Sadece 6 saat torsiyon uygulanmış grupta şiddetin kontrole göre anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi. Diğer deney gruplarındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Sonuç olarak tek taraflı testis torsiyonu karşı testiste histolojik bozukluklara yol açmaktadır. Altı saatlik torsiyon grubunda tACE immünreaktivitesinin azalması fakat sürenin uzamasıyla aktivitedeki artma spermatogenezi korumak ve devam ettirmek için kompensatuvar bir mekanizmanın devreye girmiş olabileceğini düşündürmektedir. tACE testis torsiyonu gibi patolojik süreçlerde rol alan bir enzimdir ancak bu enzimin etkileşim mekanizmalarını aydınlatacak ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Testis torsiyonu, tACE, immünohistokimya.

2. ABSTRACT

Testicular torsion is a pathological condition that causes ischemia on ipsilateral side and degenerative changes on the contralateral testis. Testicular angiotensin converting enzyme (tACE) is expressed in male germ cells, especially after termination of meiosis during spermiogenesis. tACE has been reported to have effects on spermiogenesis and fertility, sperm motility, capacitation and acrosome reaction. The aim of this study was to investigate the damage on contralateral testis after testicular torsion with light and electron microscopy and changes in tACE expression immunohistochemically.

In this study, 36 adult, male Wistar rats were used. Rats were divided into six groups. Group I; Control, Group II; Sham group in which testes were fixed from their upper and lower poles, sutures were taken 12 hours later and testes were excised 24 hours after the latter procedure, Group III; Right testis was excised after 6 hours 720° counter clockwise torsion of left testis, Group IV; Left testis was detorsed after 6 hours of similar torsion and right testis was excised 24 hours later, Group V; Right testis was excised after 12 hours of similar 720° torsion of left testis, Group VI; Left testis was detorsed after 12 hours of similar torsion and right testis was excised 24 hours later.

At the end of the experiment, right testes were taken for light and electron microscopic investigation, tACE immunoreactivity was determined with Avidin-Biotin-Peroxydase method. Data were analysed with Mann-Whitney U test using proper computer program. $p < 0.05$ was accepted to be statistically significant.

When evaluated under light microscopy, degenerative seminiferous tubules, germ cells with heterochromatic and pyknotic nucleus, separation

between germ cells and vacuolization in some tubules were observed on right testes. Electron microscopy revealed thinning of basement membrane, intracytoplasmic vacuolization in germinal cells and loss of intercellular junctions. When changes in tACE immunoreactivity was assessed, it was 2.72 ± 0.14 in control group and 2.71 ± 0.15 in sham group, respectively. This ratio dropped to 2.16 ± 0.16 in Group III ($p < 0.05$). It was 2.38 ± 0.08 in Group IV, 2.64 ± 0.09 in Group V and 2.47 ± 0.17 in Group VI, respectively. In only 6 hours torsion group, this score was observed to be significantly decreased when compared to control group. Rest of the changes in the other groups were not statistically significant.

In conclusion, unilateral testicular torsion causes contralateral histological changes. Decrease of tACE immunoreactivity after 6 hours and its increase after prolongation of torsion period may reveal a compensatory mechanism to protect and maintain spermatogenesis. tACE is an enzyme that takes part in pathological processes like testicular torsion but further studies are required to enlighten the activities of this enzyme.

Key words: Testicular torsion, tACE, immunohistochemistry.

3.GİRİŞ

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (angiotensin converting enzyme, ACE), kan basıncını düzenleyen renin-anjiyotensin sisteminin majör bir enzimidir. ACE geni iki izozimi kodlar; somatik ACE (sACE) ve testiküler ACE (tACE). sACE vasküler endotel hücreleri, böbrek proksimal tübül hücreleri, intestinal fırçamsı kenar hücreleri, epididimisin epitel hücreleri ile beynin birçok bölgesinden eksprese edilir (33). Buna karşın tACE sadece gelişmekte olan spermatidlerden ve olgun spermatozoadan eksprese edilir (79). Her iki izozim de plazma membranlarına, karboksil uçlarına yakın hidrofobik bir bölgeden bağlı ektoproteinlerdir ve benzer enzimatik aktiviteye sahiptirler (54).

Birçok çalışma, tACE aktivitesinin erkek fertilitesiyle ilişkili olduğunu bildirir. Her iki ACE geninden yoksun olan farelerde son derece düşük kan basıncı ve böbrek disfonksiyonu gözlenmiştir (75). Ayrıca erkek homozigot mutantlar, normal testis yapısı, sperm sayısı, morfolojisi ve motilitesine sahip olmalarına rağmen çok az sayıda yavruya sahip olmuşlardır. Her iki ACE izoziminden de yoksun farelerin spermatozoaları oviduktlarda ilerlemede ve oositin zona pellusidasına bağlanmasında defektler göstermişlerdir. Sadece sACE'den yoksun fakat tACE'e sahip fareler normal şekilde fertil bulunmuşlardır ki bu da erkeklerde fertilité için sACE'in gerekli olmadığını gösterir (49). Ayrıca ACE, insan spermatozoasından akrozom reaksiyonu ve kapasitasyon boyunca serbestlenir (40). Kapasitasyon boyunca spermin ACE serbestlemesinin sperm akrozom reaksiyonuna izin veren mekanizmaların düzenlenmesinde, dolayısıyla da fertilizasyon yeteneğinde fizyolojik rolü olabilir (41).

Testis torsiyonu testisin rotasyona uğradığı ve spermatik kordun döndüğü klinik bir durumdur. Spermatik kordun dönmesi etkilenen testise kan akışını engeller. Bu lezyon sıklıkla ergenlik dönemindeki erkek çocuklarda görülmesine rağmen daha genç ve daha yaşlı erkeklerde de meydana gelebilir (22).

Torsiyonu düzeltmek için sıklıkla cerrahi müdahale gerekebilir fakat kan akımı yeniden sağlansa bile rotasyonun derecesine ve torsiyonun süresine bağlı olarak testiküler atrofi gözlenebilir (7). Bu konuda karşıt görüşler de olmasına rağmen genel olarak tek taraflı testis torsiyonunun ipsilateral testiste olduğu kadar kontralateral testiste de hasar oluşturabileceği ve azalmış fertilitite ve anormal spermiyogramla sonuçlanabileceği kabul edilmektedir (72, 116).

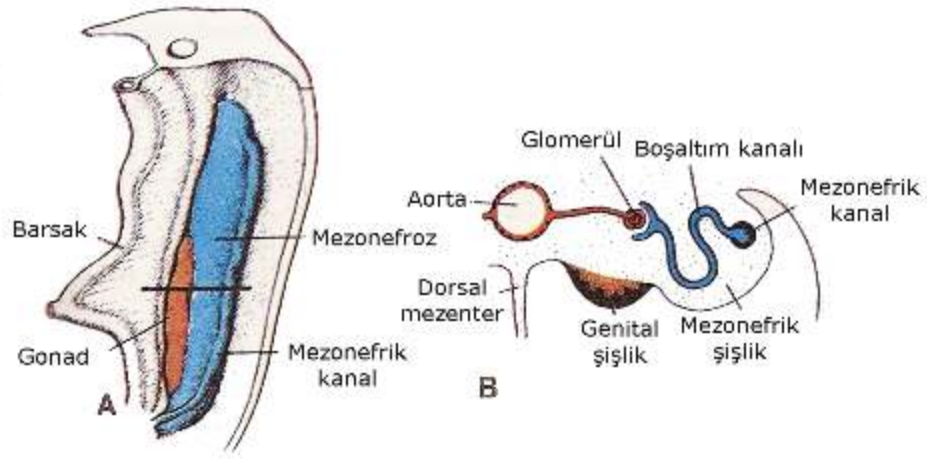
Bu bilgiler ışığında çalışmamızda sıçanlarda deneysel oluşturulacak tek taraflı testis torsiyonu sonucunda karşı testiste meydana gelecek değişikliklerin ışık ve elektron mikroskopik olarak, tACE ekspresyonunda oluşacak değişikliklerin ise immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesini amaçladık.

3.1 Testis Embriyolojisi

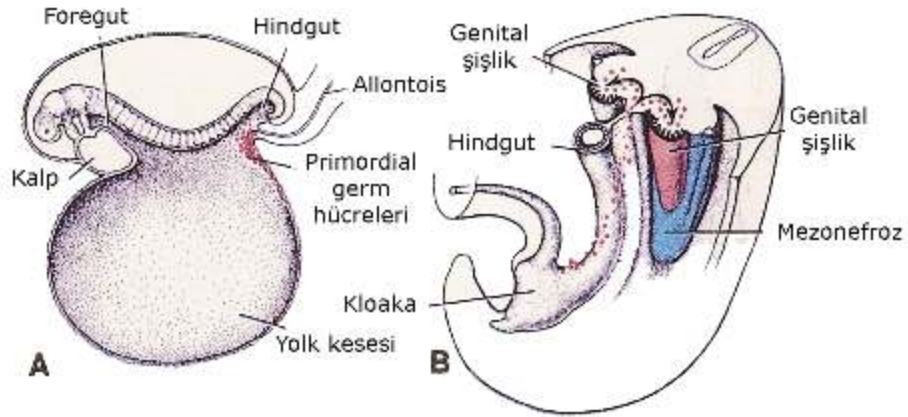
Ürogenital sistem, embriyonun dorsal vücut duvarı boyunca yerleşen ara mezodermden gelişir. Dördüncü hafta başında embriyonun horizontal planda katlanması sırasında bu mezoderm ventrale doğru kayar ve somitlerle olan bağlantısını kaybeder. Dorsal aortun her iki yanında uzanan bu longitudinal mezoderm kabartısı ürogenital kabartı olarak adlandırılır. Üriner sistemi meydana getiren ürogenital kabartı kısmı nefrojenik kordon, genital sistemi oluşturacak kısmı gonadal kabartı olarak adlandırılır. Nefrojenik kordonun servikal ve yukarı torasik bölgelerinden pronefrozarlar, aşağı torasik, lumbar ve sakral bölgelerinden ise mezonefrozarlar ve metanefrozlar gelişir. Pronefrozarlar 4. hafta başında ortaya

ıkarlar ve fonksiyonel değillerdir. Mezonefrozar, dördüncü haftanın sonuna doğru rudimenter yapılar olan pronefrozarın kaudalinde ortaya çıkarlar. Kalıcı böbrekler ya da metanefroz oluşuncaya kadar ara böbrekler olarak işlev görürler.

Gonadal gelişimin ilk safhaları 5. haftada ortaya çıkar. Mezonefrozun medialinde, mezotelde bir kalınlaşma meydana gelir. Bu epitelin ve altındaki mezenşimin proliferasyonu ile mezonefrozun medialinde gonadal kabartı oluşur (Şekil 1). Gelişmenin 4. haftasında büyük yuvarlak ilkel cinsiyet hücreleri, allantois kesesi yakınında, vitellüs kesesi endoderm hücreleri arasında görülmeye başlarlar. Embriyonun kıvrılması sırasında, vitellüs kesesinin dorsal kısmı embriyo içine alınır. Bu katılma gerçekleşirken ilkel cinsiyet hücreleri son barsağın dorsal mezenterî yoluyla gonadal kabartılara ameboid hareketlerle göç ederler (Şekil 2). Primordial germ hücrelerinin göçlerinden hemen önce ya da göçleri sırasında gonadal kabartının sölom epiteli tekrar çoğalır ve altındaki mezenşime yayılarak düzensiz primitif seks kordonlarını oluşturur. Altıncı hafta sırasında primordial germ hücreleri alttaki mezenşim içerisine girerler ve primer seks kordonlarına dahil olurlar. Yedinci haftadan önce her iki cinsin de gonadları benzerdir ve bu şekilde dışta yer alan bir korteks ve içte yer alan bir medulladan oluşmaktadır.



Şekil 1: A. Genital kabarıklık ve mezonefroz arasındaki ilişkiyi gösteren çizim. B. Mezonefroz ve genital kabarıklıktan A'da belirtilen seviyeden geçen transvers kesit. (Langman's Medikal Embriyoloji'den alınmıştır.)



Şekil 2: A. 3 Haftalık embriyoda yolk kesesi duvarında, allontois bağlantısına yakın bir yerde primordial germ hücrelerini gösteren şematik çizim. B. Primordial germ hücrelerinin, son barsak ve dorsal mezenter boyunca genital kıvrıma doğru giden göç yolu. (Langman's Medikal Embriyoloji'den alınmıştır.)

Y kromozomu, farklanmamış gonadın medullası üzerinde testis belirleyici etkiye sahiptir. Testis belirleyen faktör geni (testis determining factor, TDF), Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki cinsiyet belirleyen yörede (sex determining

region of the Y chromosom, SRY) yerleşiktir. Bu faktör farkanmamış gonadın primitif seks kordonlarındaki hücrelerde sentezlendiğinde, taslak gonadlar testislere farkanırlar. XY seks kromozomuna sahip embriyoda medulla testise farkanır, korteks birtakım kalıntıları dışında geriler, dejenere olur. TDF, primer seks kordonlarını uyarak onların farkanmamış gonadın medulla derinlerine doğru uzamasına neden olur, kordonlar burada dallanarak anastomoz yaparlar ve böylece rete testis oluşur. Seks kordonlarının (seminifer kordonların) 12. haftada kalın bir fibröz kapsül olan tunika albuginea geliştikten sonra yüzey epiteli ile olan bağlantıları kaybolur. Onaltıncı haftada, seks kordonları at nalı biçimini alırlar ve uç noktaları birleşerek tubuli rektleri yaparlar. Seks kordonları bu evrede, ilkel cinsiyet hücrelerini ve sölom epitelinden köken alan Sertoli hücrelerini içerirler. Fetal testiste Sertoli hücreleri antimüllerian hormonu (AMH) salgırlar. Bu hormonun salınımı puberteye kadar devam eder ve paramezonefrik duktusların gelişimini baskırlar. Seks kordonları arasındaki mezenşimde ise Leydig hücreleri bulunur. Seks kordonlarının içi puberteye kadar doludur. Pubertede lümen kazanırlar ve seminifer tübül adını alırlar. Giderek büyüyen testis, gerileyen mezonefrozdaki ayrılır ve mezorşiyum denilen kendi mezenterisi ile asılı durur. Testis gelişmesinin son aşamasında, yüzey epiteli yassılaşıarak ergin testisin dış yüzünü döşeyen tek katlı mezotelyumu oluşturur. Rete testis, duktuli efferentesi oluşturan 15-20 adet mezonefrik tübül ile devam eder. Bu tübüller duktus epididimisi oluşturan mezonefrik duktus ile bağlanırlar (90, 134).Yaklaşık 26. haftada testisler posterior karın duvarından skrotuma inerler. Konumdaki bu değişme, pelvis genişlemesi ve embriyo bedeninin uzaması ile birlikte olur. Ayrıca testislerin alt kutuplarını gelişen skrotuma bağlayan, testosterona duyarlı

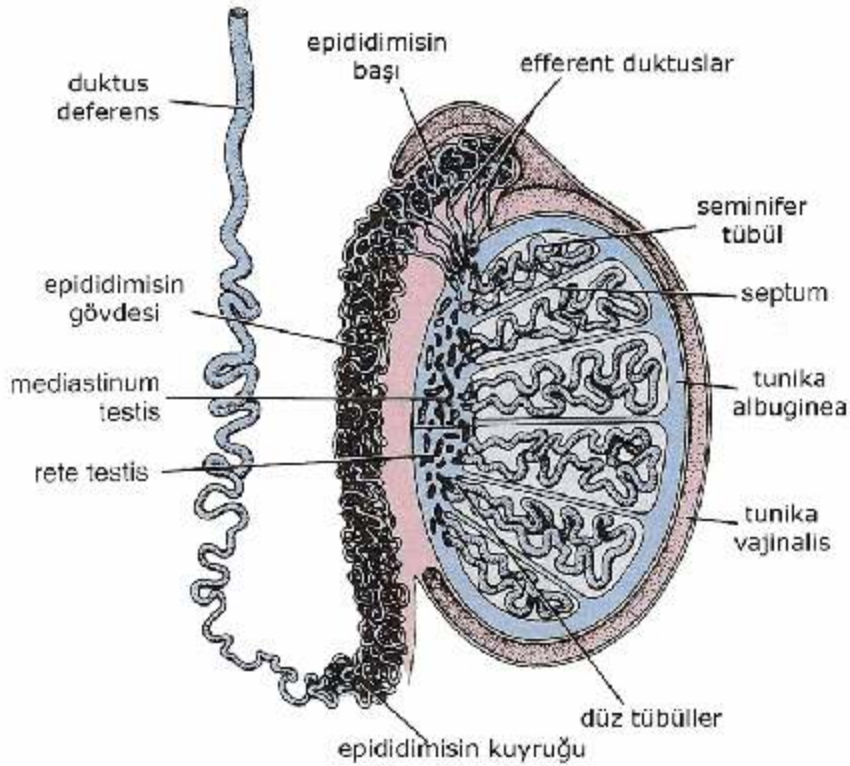
ligamentum gubernakulumun, testosteron salınımıyla kısılması da etkilidir. Testisler, abdominal kavite ve skrotum arasında dar bir geçit olan inguinal kanaldan geçerek skrotuma inerler (90, 111).

3.2 Testis Anatomisi

Funniculusspermaticusa asılı durumda bulunan testisler, sağlı sollu bir çift olup, skrotumun içinde bulunurlar. İri bir badem büyüklüğünde olan testisler yaklaşık olarak 4-5 cm uzunluğunda, 2,5 cm genişliğinde, 3 cm kalınlığında ve 10-14 gr ağırlığındadır. Testis, lamina visceralis, tunika albuginea ve tunika vasculosa olmak üzere üç tabaka ile sarılmıştır. Tunika vaginalis testis, fascia spermatika internanın iç, testisin de dış yüzünü saran seröz peritoneal zardır. Testisi örten kısmına lamina visceralis, fascia spermatika internaya yapışan kısmına lamina parietalis denir. Tunika albuginea, testisi saran mavimsi beyaz renkli, sıkı yapılı fibröz bir tabakadır. Arka kenarda testisin içine doğru kalın ve vertikal yarım bir bölme şeklinde uzantı gönderir. Bu bölmeye mediastinum testis denir. Mediastinum testisin ön ve yan kısımlarından çıkan septula testis denilen bölmeler testisi piramit şeklinde boşluklara ayırır. Mediastinum testisten damarlar ve kanallar girip çıkarlar.

Tunika vasculosa, tunika albugineanın iç yüzünde bulunan damar ağı tabakasıdır. Tunika albugineanın iç yüzünü ve tüm bölmelerin yüzeylerini döşer. Böylece testisin içindeki tüm lobuli testisi de sarmış olur. Piramit şeklinde olan lobuli testislerin taban kısımları periferde, tepe kısımları ise mediastinum testise yönelmiştir. Her bir lobçuk 1-3 veya daha fazla küçük tüplerden oluşur. Kıvrıntılı seyrinden dolayı bu tüplere tubuli seminiferi kontorti denir. Bu tüpler kör bir uçla başlar ve tüpler arasında gevşek bağ dokusu bulunur. Bu tüplerin yaklaşık olarak

sayısı her bir testiste 400-600, uzunlukları 70-80 cm, çapları da 0,1-0,3 mm kadardır. Lobçukların mediastinum testise bakan tepe kısımlarında bu boruların seyri gittikçe düzleşir ve birbirleriyle birleşerek sayıları 20-30'a iner. Tubuli seminiferi rekti denilen bu tüplerin, çapları da genişleyerek 0,5 mm olur. Tubuli seminiferi rektiler mediastinum testisin fibröz dokusu içine girerek arkaya ve yukarı doğru uzanır. Bu kanallar seyri esnasında birbirleriyle anastomoz yaparak rete testis denilen ağı oluştururlar. Rete testis, mediastinum testisin üst bölümünde sayıları 12-15 arasında değişen kanallar şekline dönüşür. Duktuli efferentes testis denilen bu kanallar testisin arka kenarının üst kısmında tunika albugineayı delerek dışarı çıkarlar. Duktuli efferentes testisler kaput epididimide duktus epididimis denilen kanala açılır. Epididimide spermiyumlar depo edilir ve olgunlaşmasının son safhasını tamamlar (Şekil 3) .



Şekil 3: İnsan testisinin midsagittal kesiti. (Histology. A Text and Atlas, 5th ed.(Ross, Pawlina)'dan modifiye edilmiştir).

Testis ve epididimis aortanın dalı olan a. testicularisten beslenirler. a.testicularis, a. renalislerin biraz aşağısında aortanın ön yüzünden ayrılan bir çift arterdir. a. testicularis birçok dala ayrılır. Bu dallardan 2 veya 4 tanesi duktus deferens boyunca uzanarak epididimisi besler. Diğer dalları tunika albugineanın arka kısmını delerek testise girer ve bu organı besler.

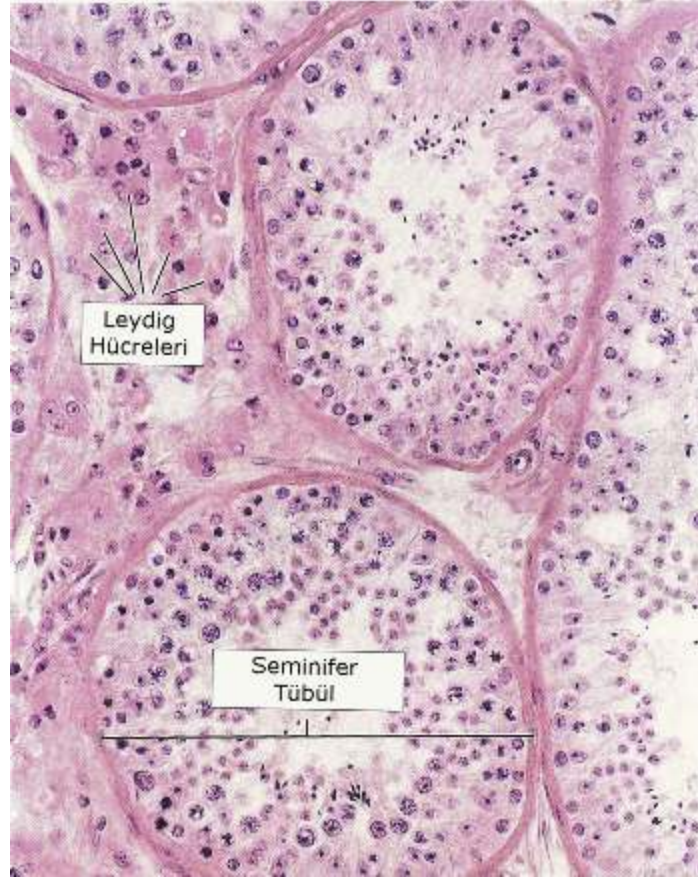
Testis ve epididimisin venleri önce plexus pampiniformis denilen kıvrıntılı bir ven plexusunu, daha sonra da birbirleriyle birleşerek v. testicularisi oluştururlar. Bunların da sağ taraftaki v. cava inferiora, sol taraftaki v. renalis sinistraya açılır. v. testicularislerde kapakçık bulunur.

Lenfatik drenaj yüzeysel ve derin olmak üzere iki şekilde olur. Yüzeysel tunika vaginalisin yüzeyselinde, derindeki ise epididimis ve testisin içinde bulunur. Bunlar 4-8 damar şeklinde funiculus spermaticus ile birlikte karın boşluğuna girerler. v. testicularisi takip ederek aortanın ön ve yan tarafındaki lenf nodüllerine açılırlar.

T₁₀. - 11. medulla spinalis segmentlerinden kaynaklanan sempatik lifler, damarların çevresindeki plexuslar aracılığı ile gelir. Plexus testicularis erkeklerde a. testicularis etrafında testise uzanır, dalları da epididimis ve duktus deferense gider. Üst bölümü plexus aorticus abdominalis ve plexus renalisden, alt bölümü ise plexus hypogastricus superior ve inferiora lifler alır (5).

3.3 Testis Histolojisi

Sıkı bağ dokusu kapsülü olan tunika albugineadan uzanan septalar testisi lobüllere ayırır. Her bir lobülde içinde spermin üretildiği 1-4 adet seminifer tübül ve Leydig hücrelerini (interstisyel hücreler) içeren bağ doku stroması bulunur (Şekil 4).



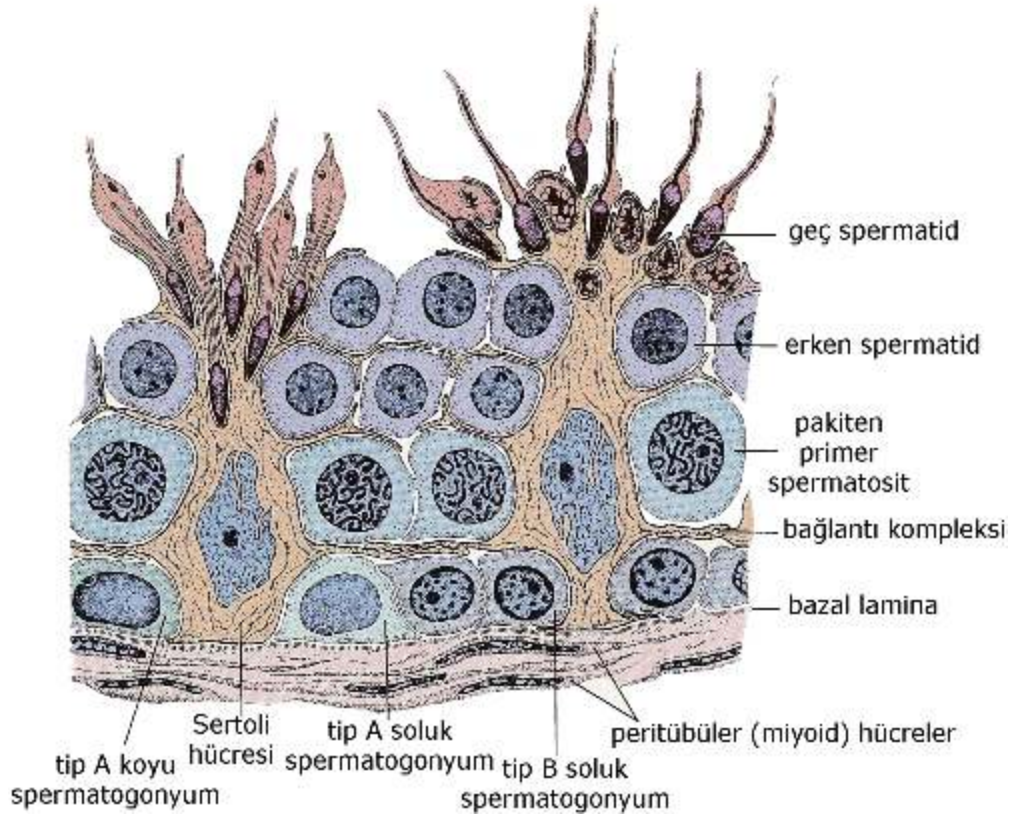
Şekil 4: Testis dokusu kesitinde seminifer tübüller ve bunların arasına yerleşmiş Leydig hücreleri izlenmekte. (Histology. A Text and Atlas, 5th ed.(Ross, Pawlina)’dan modifiye edilmiştir).

Seminifer tübül epiteli iki temel hücre popülasyonundan oluşan kompleks çok katlı epitelidir. Sertoli hücreleri, aynı zamanda destek hücreleri olarak da bilinirler. Bu hücreler puberteden sonra çoğalmazlar. Komşu spermatogenik hücreleri çevreleyen ve onlar arasındaki boşlukları dolduran apikal ve lateral uzantılara sahip prizmatik hücrelerdir. Bu karmaşık biçim rutin hematoksilin eozin preparatlarda gözlenemez. Sertoli hücreleri seminifer epitelin tüm kalınlığı boyunca yer alırlar. Geniş düz endoplazmik retikulum, iyi gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum ve annulat lamel yığınları içerir. Çok sayıda küresel ve uzamış mitokondriya, iyi gelişmiş Golgi aparatı, değişen miktarlarda

mikrotübüller, lizozomlar, lipid damlaları, veziküller, glikojen granülleri ve filamanlara sahiptirler. 7-9 nm kalınlığında bir filaman kılıfı nükleusu sitoplazmik organellerden ayırır. Hücrenin çok aktif olduğunu gösteren ökromatik nükleus genelde oval ya da üçgen şekillidir ve bir ya da birkaç derin katlantıya sahiptir. İnsanlarda bazal sitoplazmada fonksiyonları bilinmeyen Charcot-Böttcher inklüzyon cisimcikleri bulunur (111). Sertoli hücreleri bazolateral bölgelerinde komşu Sertoli hücreleriyle okludens bağlantıları oluştururlar. Bu bağlantılar seminifer epiteli bir bazal bir de adluminal kompartmana bölerler ve geliştirmekte olan spermatositleri ve spermatidleri otoimmün reaksiyonlardan koruyan kan-testis bariyerini oluştururlar. Sertoli hücreleri geliştirmekte olan spermatogenik hücreleri destekler, korur, besler; spermiyogenezin sonunda spermatidler tarafından atılan rezidüel cisimcikleri fagosite eder; kasılarak olgun spermatidlerin tübül lümenine salınımını kolaylaştırır ve lümen protein ve iyonlardan zengin bir sıvı salgılar. Sertoli hücreleri folikül stimüle edici hormon (FSH) uyarımıyla, androjen bağlayıcı protein (ABP) sentezler. ABP, testosteron ve dihidrotestosteron androjenlerine yüksek bağlanma afinitesinde olan bir salgısal proteindir. Sertoli hücreleri ayrıca FSH üzerine negatif feed-back etkisi olan inhibin ve pozitif feed-back etkisi olan aktivini de salgırlar (64).

Seminifer tübül epitelinin diğer hücreleri olan spermatogenik hücreler düzenli olarak çoğalıp matür sperme farklılaşırlar. Bu hücreler vitellüs kesesinden köken alan primordiyal germ hücrelerinden gelmektedirler. En immatür spermatogenik hücreler bazal lamina üzerinde yerleşmişlerdir ve spermatogonya adını alırlar. En olgun spermatogenik hücreler ise spermatidlerdir ve Sertoli hücrelerinin apikal kısmına tutunup tübül lümeninin kenarını oluştururlar.

Peritübüler doku olarak da bilinen tunika propriya, tipik fibroblastlardan yoksun, çok katlı bağ dokusudur. İnsanlarda seminifer tübül bazal laminasının dışında 3-5 kat miyoid hücre (peritübüler kontraktıl hücreler) ve kollagen liflerden oluşur. Ultrastrüktürel düzeyde miyoid hücreler düz kas hücrelerinin özelliği olan çok sayıda aktin filamanı içerir. Ayrıca fibroblast yokluğunda kollagen sentezlediklerini belirtecek şekilde çok sayıda granüllü endoplazmik retikuluma sahiptirler. Miyoid hücrelerin ritmik kontraksiyonları, spermatozoa ve testiküler sıvının seminifer tübüllerden boşaltıcı kanal sistemine akışına yardımcı olan peristaltik dalgalanmaları oluşturur (Şekil 5).



Şekil 5: İnsan seminifer epitelinin şematik çizimi. (Histology. A Text and Atlas, 5th ed. (Ross, Pawlina)'dan modifiye edilmiştir).

Miyoid tabakanın dışında, Leydig hücreleriyle birlikte kan damarları ve geniş lenf damarları da bulunur. Leydig hücreleri, geniş, poligonal, eozinofilik hücrelerdir ve tipik olarak yağ damlacıkları içerirler. Lipofuksin pigmenti ve çubuk şekilli sitoplazmik kristaller olan Reinke kristalleri de bu hücrelerde bulunurlar. Diğer steroid sentezleyen hücreler gibi Leydig hücreleri de çok sayıda düz endoplazmik retikulum içerirler. Testosteron sentezi için gerekli olan enzimler de düz endoplazmik retikulumla ilişkilidir. Tübüloveziküler kristal mitokondri de steroid sentezleyen hücrelerin özelliğidir ve Leydig hücrelerinde bulunurlar. Leydig hücreleri erken fetal hayatta farklılaşırlar ve testosteron salgılamaya başlarlar. Testosteron salgılanması, embriyonik gelişim, seksüel olgunlaşma ve üreme fonksiyonu için gereklidir. Leydig hücreleri erkek fetüsün erken farklılaşma döneminde aktiftir ve fetal hayatın 5. ayından itibaren inaktif bir periyoda girerler. İnaktif Leydig hücrelerini fibroblastlardan ayırt etmek güçtür. Pubertede gonadotropik stimülasyona uğrayan Leydig hücreleri yeniden androjen salgılayan hücreler haline gelirler ve yaşam boyu aktif kalırlar (111).

3.4 Spermatogenez

Spermatogonyumlar bazal kompartmanda bazal lamina ile direkt ilişkide olan diploid spermatogenik hücrelerdir. Sertoli hücreleri arasındaki tıkalı bağlantıların altında bulunurlar ve bu nedenle kan-testis bariyerinin dışında yer alırlar. Spermatogonyumlar spermatogonyal kök hücreden köken alırlar ve pubertede başlayan mitotik hücre bölünmeleri geçirirler.

İki temel morfolojik spermatogonyal kök hücre tipi gözlenebilir: Tip A spermatogonyum, (insan testislerinde A koyu ve A açık spermatogonyumlar olarak gözlenir) ve tip B spermatogonyum. Tip B spermatogonyumların en son

mitotik bölünmesinin ardından ortaya çıkan yavru hücreler olan primer spermatositler DNA sentezlerler (S fazı), G2 fazına ilerlerler ve 4n kromozom içerikleri ile birinci mayoz bölünmeye başlarlar. Birinci mayoz bölünme, yaklaşık 10 gün süren uzun bir profaz ile karakterizedir. Spermatositler kan-testis bariyerinin hemen üzerinde, adluminal kompartmanda yer alırlar. Dolayısıyla mayoz bölünmeler kan-testis bariyerinin içinde gerçekleşir. Birinci mayoz bölünme uzun bir süreç olduğundan, primer spermatositler seminifer tübüllerde en bol gözlemlenen hücrelerdir. Birinci mayoz bölünmenin profazının alt evreleri ; leptoten (ipliksi), zigoten (eşleşen), pakiten (kalınlaşan), diploten (çift görünen) ve diyakinez (uzaklaşan) evreleridir. Bu alt evreler dört temel olayla karakterizedir: zigoten-pakiten evresinde homolog kromozomların eşleşmesini ya da sinapsını kolaylaştıran sinaptonemal kompleks oluşumu; homolog kromozomların eşleşmesi, krossing over ve ayrılma. Bu uzamış profaz evresinden sonra, kardeş kromatid çiftleri metafaz, anafaz ve telofaz evrelerinden geçer ve yavru hücreler olan sekonder spermatositlere dağılırlar.

Sekonder spermatositler çok hızlı bir şekilde interfaz aşaması ve belirgin bir DNA sentezi olmayan (sadece tamir DNA sentezi meydana gelir) ikinci mayoz bölünmeye (eşitleme bölünmesi) giderler. İkinci mayoz bölünme sırasında, profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evreleri kardeş kromatidleri yavru hücreler olan spermatidlere dağıtırlar.

Meydana gelen haploid spermatidler Sertoli hücrelerinin sitoplazma kriptaları içinde gömülüdürler ve spermiyogenez denilen oldukça farklı bir işleme uğrarlar. Spermiyogenez aşamasında önce flagellum, daha sonra akrozom gelişir

ve nükleer yoğunlaşma meydana gelir. Spermiyogenezin sonunda olgun sperm oluşmuş olur (69).

3.5 Testis Torsiyonu

Testis torsiyonu testiste iskemi oluşturan ve kan akımını yeniden sağlamak için cerrahi müdahale gerektiren patolojik bir durumdur (87). Yeni doğanlarda, çocuklarda, ergenlikte görülebilir ve ipsilateral testiste orşiektomi gerektirebilir ve kontralateral testiste infertiliteye neden olabilir (39). Testis torsiyonu ya da spermatik kord torsiyonu spermatik damarları sıkıştırır, testiküler kan akımını yavaşlatır ya da durdurur ve testiküler iskemiye indükler. 6-10 saatlik bir torsiyondan sonra başarılı bir detorsiyon yapılırsa dahi ipsilateral testis kalıcı olarak disfonksiyonel hale gelir (141). Fakat infertilitenin asıl nedeni kontralateral testiste meydana gelen dejenerasyondur (97). Kontralateral testiste oluşan hasarın mekanizması henüz açıklığa kavuşmamıştır. Bu konuyla ilgili farklı görüşler bulunmaktadır. Bir görüşe göre testiküler torsiyondaki primer patofizyolojik olay, iskemiye takiben oluşturulan reperf zyondur (140). İskemi-reperfüzyonla hasara uğrayan endotelial hücrelerde polimorfonükleer (PMN) hücreler için özel yüzey adhezyon molekülleri eksprese olur. Özellikle E-selektin endotelial hücrelerin yüzeyinde bulunur. PMN hücreler subtunikal olarak venüllere tutunurlar ve venül duvarlarından diapedezle interstisyuma geçip reaktif oksijen türlerini (ROS)  retirler (87, 143). ROS'lar toksiktir ve hücre ölümüne sebep olabilirler. Yüksek konsantrasyonda hücre nekroza, düşük konsantrasyonda ise apoptoza gider (143). Kontralateral testiste hasar oluşma mekanizmasıyla ilgili kabul gören bir diğer görüş ise torsiyonla birlikte karşı testisin kan akımında, sempatik refleksle azalma olmasıdır (137).

Testis torsiyonunun tedavisinde dönmüş testis düzeltilir ve canlılığı değerlendirilir. Canlılığı şüpheli olan testislerin eksize edilmesi veya hormonal fonksiyonun düzelip düzelmeyeceğini görmek için yerinde bırakılması tartışmalıdır (96).

3.6 Klasik Renin Anjiyotensin Sistem

Renin- Anjiyotensin sistem (RAS), arteriyel basıncın ve kan hacminin düzenlenmesinde önemli rol oynar (28). Klasik sistemde renin dolaşıma böbrekteki Jukstaglomerüler (JG) hücrelerden renal arter basıncı düştüğünde ve distal tübüllerde Na seviyesi azaldığında sempatik stimülasyona cevap olarak salınır (50).

Reninin inaktif formu olan prorenin böbreklerin JG hücrelerinde sentez edilir ve depolanır. JG hücreler glomerüllerin hemen proksimalindeki afferent arteriyollerin duvarında bulunan farklılaşmış düz kas hücreleridir. Arter basıncı düştüğünde böbrek içinde gelişen olaylar JG hücrelerden bir çok prorenin molekülünün parçalanıp renin serbestlemesine neden olurlar. Reninin çoğu kan dolaşımına geçerek tüm vücuda yayılırken bir bölümü lokal sıvı içinde kalarak bir çok böbrek içi fonksiyonu başlatır.

Reninin kendisi vazoaktif bir madde olmayıp bir enzimdir. Karaciğerde bulunan bir başka plazma proteini olan globulin yapısındaki anjiotensinojen üzerine enzimatik bir etki ile 10 amino asitlik bir peptid olan anjiyotensin I (Ang I)'in serbestlenmesine neden olur. Anjiyotensin I orta derecede vazokonstrüktör özelliklere sahip olup tek başına dolaşım fonksiyonlarında anlamlı değişiklikler yapmaya yeterli değildir. Renin yaklaşık 30 dakika kadar dolaşımda kalarak Ang I oluşturmaya devam eder.

Ang I, yapımından birkaç saniye sonra 2 amino asitini kaybederek 8 amino asitli bir peptid olan Anjiyotensin II (Ang II) haline gelir. Bu değişim tamamen kanın küçük akciğer damarlarından geçtiği birkaç saniye içinde akciğer damarlarının endotelinde bulunan anjiyotensin konverting enzim (ACE) adlı bir enzim tarafından katalizlenerek gerçekleşir (48).

Ang II, Ang II tip I reseptörü (AT1) ve Ang II tip II reseptörü (AT2) üzerinden etki eden oldukça güçlü bir vazokonstrüktör olup dolaşım dışında da etkileri bulunmaktadır. AT1, vazokonstrüksiyon ve aldosteron salınımından sorumludur ve kültür modellerinde hücresel büyümeyi teşvik eder. AT2'nin antagonistik etkileri ve apoptozu düzenlediği düşünölmektedir (26). Ang II, dolaşımında 1 ila 2 dakika kaldıktan sonra anjiyotensinazlar olarak adlandırılan, değişik dokularda ve kanda bulunan enzimlerce inaktive edilir.

Ang II dolaşımında kaldığı süre içinde kan basıncını iki ayrı nedenle artırır. Bunlardan birincisi hızla oluşun vazokonstrüksiyondur. Arteriollerin kasılması periferik direnci arttırarak arter basıncını yükseltir. Venlerde meydana gelen orta dereceli kasılma ise kalbe venöz dönüşü artırarak kalbin yükselen basınca karşı pompalama gücünü artırır.

Anjiyotensinin arter basıncını artırıcı diğer etkisi böbrek üstü bezlerinden aldosteron salgılanmasına neden olarak ve böbrekler üzerine kan akımını azaltıcı şekilde direkt etki edip, su ve tuz tutulmasını sağlayarak gerçekleşir. Bunun sonucunda ekstrasellöler sıvı hacmi yavaş yavaş artmakta, bu da saatler ve günler içinde arter basıncının yükselmesine neden olmaktadır. Bu uzun süreli etki arter basıncının normal seviyesine döndürölmesinde akut vazokonstrüktör etkiden daha güçlüdür (48).

Ang II'nin bu fonksiyonlarının çoğunluğu AT1 tarafından yürütülür ve AT2 ile antagonize edilir (108).

Bazı RAS komponentlerinin bu şemanın dışında da önemli roller oynadığını gösteren kanıtlar mevcuttur. Ang II'yi oluşturmak dışında ACE, vazodilatör ve antifibrotik peptidlerin metabolizmasında da eşit derecede önemli multifonksiyonel bir enzimdir.

ACE'in membrana bağlı formu 'reseptör' görevi görür ve gen ekspresyonuna neden olan intrasellüler sinyalleşmeyi başlatır. Hem Ang I hem de Ang II yeni ACE homologu ACE2 yoluyla RAS'dan bağımsız hatta ona zıt etkiler gösterebilirler (78).

RAS'ın öncelikle ve çoğunlukla hem vazokonstrüktör hem de sıvı-elektrolit koruyucu mekanizmalarla kan basıncını sağlayan bir vazopressör sistem olmakla birlikte daha geniş fonksiyonlara sahip olduğu fark edilmiştir (130).

3.7 Lokal RAS

Birçok doku, dolaşımdaki RAS'tan başka ya da ona ilaveten spesifik lokal ihtiyaçları karşılayan intrinsik anjiyotensin üreten sistemlere sahiptir (84). Sistemik RAS'a ilaveten Ang II'yi otokrin ve parakrin yolla oluşturan "lokal RAS" lar, kalp, damarlar, yağ dokusu, adrenaller, beyin ve böbrekler gibi birçok dokuda tanımlanmıştır (108). Ang II'nin lokal üretimi, birçok fizyolojik sürecin regulasyonunda yer alır (6, 82, 108). Bunlardan biri de üremenin kontrolüdür (130).

Testis ve epididimiste de bazı RAS komponentleri bulunduğu için lokal RAS fonksiyonlarından söz edilebilir (83, 85, 149). Lokal RAS'ın erkek fertilitesindeki önemi tam açıklığa kavuşmamıştır ve biraz da tartışmalıdır (84).

ACE ve üretilen anjiyotensinler AT1 yoluyla sperm motilitesi, kapasitasyon ve akrozom reaksiyonunda yer alabilir (41, 44, 73, 115, 148). Ayrıca ACE seminal sıvıda bulunan Ang II oluşumuyla epididimide sıvı elektrolit transportu regülasyonunda yer alabilir (94, 154, 155). Son olarak ACE'in doğal bir substratı olan AcSDKP (N-asetil-seril-aspartil-lizil-prolin) testis interstisyel sıvısında yüksek konsantrasyonlarda bulunmuştur. AcSDKP, germ hücre proliferasyonunu in vitro artırır ve muhtemelen spermatogonyanın hayatta kalmasına katkıda bulunur (131).

Klasik RAS'ın testislerde bulunduğuna en iyi kanıt renin, anjiyotensinojen, tACE, AT1, AT2, ve Ang II'nin testislerde bulunmasıdır (37, 49). Renin mRNA'sı fare testisinde Leydig hücrelerinde bulunmuştur (15, 25, 98) fakat sıçan testisinde yoktur (15, 31). Bu da bu dokularda lokal anjiyotensinlerin böbrekten gelen plazma kökenli reninden türeyebileceğini göstermektedir (83).

Anjiyotensinlerin testiste lokal olarak üretildikleri açıklığa kavuşmasına rağmen (99) başlangıçta anjiyotensinojen mRNA'sı sıçan testisinde gösterilememiştir (15, 16, 31, 93). Cassis ve ark. epididimal yağ yastıkçıklarının yüksek konsantrasyonda anjiyotensinojen içerdiğini göstermiştir ve testiste ve aşağı üreme organlarında üretilen anjiyotensinlerin epididimideki anjiyotensinojenin çevrilmesiyle oluştuğunu ileri sürmüştür (16). Daha sonra sıçan testisinin düşük seviyede anjiyotensinojen mRNA'sı eksprese ettiği gösterilmiştir (53, 71). Anjiyotensinojen ister testiste lokal olarak üretilsin ister karaciğerden ya da epididimisten gelsin anjiyotensinler testiste lokal olarak üretilirler (99).

Sıçan ve insan testisleri Leydig hücrelerinde yüksek affinitede Ang II reseptör bağlanma bölgelerine sahiptir (1, 68, 89). AT2, major reseptör subtipi olarak testis gelişiminin neonatal döneminde bulunur ve daha sonra puberte boyunca yerini AT1'e bırakır (64).

Leydig hücrelerinde AT1 reseptörünün alt tipleri olan AT1A ve AT1B mRNA'sı eksprese edilir (70). Ang II, LH ve testosteron üretimi arasında bir feedback mekanizmasında yer alır. Bu mekanizmada LH, Leydig hücrelerinden Ang II üretimini stimüle eder (100, 101) ve Ang II, Leydig hücrelerinden testosteron üretimi için LH stimülasyonunu inhibe eder (68). AT1 reseptörleri kapasite olmamış spermin kuyruğunda ve kapasite olmuş spermin baştan kuyruğa kadar olan bölümlerinde bulunmuştur (47). Ang II'nin insan sperm motilitesini artırdığı ve bunu AT1 reseptörüyle yürütülen bir mekanizma yoluyla sağladığı gösterilmiştir (148, 149).

Dokudaki ve dolaşımdaki RAS'ın aktif mediyatörü olan Ang II, memeli testisinde bulunur ve kontraksiyonu, büyümeyi ve peritübüler miyoid hücrelerde intrasellüler Ca'u, AT1 yoluyla indükleyerek kasılmayı sağlar. Bu da Ang II'nin seminifer tübül fonksiyonunun parakrin düzenlenmesinde rol aldığını gösterir (112). Ang II'nin sperm motilitesini artırarak değil, muhtemelen uterus kontraksiyonlarını artırarak fertilizasyonu artırdığı da düşünülmektedir (46). Fakat bazı çalışmalarda Ang II reseptör antagonistlerinin sıçanlardaki fertilité üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir (29, 129).

ACE'in dokuya özel şekilde eksprese olan iki izoziminden biri olan sACE seminifer tübüllerde ne germ hücrelerinde ne de Sertoli hücrelerinde bulunmuştur. Tüm testiste sACE bazı endotelial hücrelerde ve interstisyel Leydig hücrelerinde

gözlenmiştir. Protein, küçük müküler arter ve arteriollerin endotelial hücrelerinde bulunur. Leydig hücre grupları sürekli bir özellik olmasa da sACE proteinini plazma membranlarından eksprese ederler (103). sACE'in insan germ hücre gelişiminde ve testis oluşumunda rol oynuyor olabileceği gösterilmiştir (102). sACE fetal gelişim sırasında germ hücrelerinden düzenli olarak eksprese olur (110) ve intratübüler germ hücre neoplazmaları ve klasik seminomalarda daimi bir özellik olarak bulunur (42).

Testis aynı zamanda yüksek konsantrasyonda ACE'in germinal izozimi olan tACE'yi içerir (23). tACE katalitik olarak sACE'e benzer ve in vitro olarak Ang I'i Ang II'ye hızlıca çevirebilir (35). Başlangıçta tACE'in Leydig hücrelerinde üretildiği düşünülmüş (99) fakat daha sonra postmayotik germ hücreleriyle sınırlı bulunduğu ve non-germinal hücrelerin önemsiz düzeyde tACE aktivitesi içerdiği gösterilmiştir (132, 145). Testiküler aktivite esas olarak izole germinal hücre serilerinde ve rezidüel cisimciklerde bulunur (145). tACE yuvarlak spermatidlerde zayıf, uzamış tiplerinde ise kuvvetli immünreaktivite gösterir (103).

RAS, Leydig hücrelerine etki ederek testiküler steroidogenezi düzenleyebilir, sperm hücrelerine etki ederek spermatogenezi ve sperm canlılığını artırabilir, epididimindeki sıvı-elektrolit transportunu ve düz kas kontraksiyonunu değiştirerek sperm kapasitasyonunu düzenleyebilir, vas deferensteki nörotransmisyonu modüle ederek ejakülasyonu kolaylaştırabilir (130).

Üreme fonksiyonunun regülasyonu beyni, periferik sinir sistemini, hipofizi, üreme organlarını ve yardımcı üreme yapılarını kapsar. Sistemik ve lokal RAS'ların üreme fonksiyonuyla ilişkisinin bu seviyelerde olması muhtemeldir.

Fakat RAS'ın normal üreme fonksiyonundaki önemi henüz kesin olarak açıklığa kavuşmamıştır (130).

3.8 sACE ve tACE

ACE (kininase II, EC 3.4.15.1) genelde kan basıncı ile sıvı-elektrolit homeostazının önemli bir regülatörü olarak bilinen bir çinko metalloproteazdır (18, 34). İlk olarak Skeggs ve ark. tarafından 1956'da bulunmuştur (125). Kardiyovasküler dengede, Ang I'i güçlü bir vazopressor peptid olan Ang II'ye dönüştürerek ve vazodilatatör bir peptid olan bradikininini inaktive ederek önemli rol oynar (36). ACE'in iki farklı izozimi vardır (35). Vasküler endotelial hücrelerden ve böbrek proksimal tübüllerinin, intestinal fırçamsı kenar, epididimis ve beyin epitelyal hücrelerinden eksprese olan somatik ACE (sACE) (33), ve gelişmekte olan spermatidler ve olgun spermatozoadan eksprese olan testiküler ACE (tACE) (79). Her iki izozim de hücre yüzey glikoproteinleridir ve yapısal olarak ilişkilidir (35).

tACE'in moleküler ağırlığı 90 kDA, sACE'in ise 170kDA'dur (80). tACE yaklaşık olarak sACE'in yarısı büyüklüğündedir (35) ve tek bir katalitik bölgeden oluşurken, sACE iki katalitik bölgeden oluşur (32, 77, 81).

İnsan ACE geni kromozom 17q23 üzerinde lokalize olmuştur (128). Her iki izoform da aynı gen tarafından kodlanır (56). sACE tüm gen tarafından kodlanırken tACE testise özel 13. ekson ve devamındaki 14-26. eksonlar tarafından kodlanır (12, 56, 57, 128). tACE proteini özel, testis spesifik ekson tarafından tanımlanan amino (NH₂) ucuna sahiptir. Geri kalan bölgesi sACE'in karboksi (COOH) ucuyla özdeştir (32, 77, 81). İki izozim karboksi uçları yanında benzer hidrofobik membrana bağlanma bölgeleri içermelerine rağmen NH₂

uçlarındaki sinyal peptidleri tamamen farklıdır (77). Bağlayıcı bölge ve COOH uç arasındaki kısım intrasitoplazmikken molekülün esas katalitik kısmı hücre yüzeyinin dışındadır (121, 128).

Yüksek düzeyde sACE ekspresyonu pulmoner endotel hücrelerinde, intestinal, renal (18, 34) ve erkek genital yolları epitelyal hücrelerinde gösterilmiştir (43, 103, 146). Fakat tACE, özellikle gelişen spermatidlerden ve olgun spermatozoadan eksprese olması (79), ilk olarak pubertede açığa çıkması (23) ve daha kısa bir polipeptid zincire sahip olması açısından farklıdır (35, 80, 147).

ACE, esas olarak hücreye bağlı bir enzim olmasına rağmen çözünebilir formda serum da dahil olmak üzere birçok vücut sıvısında bulunur (127). Hücreye bağlı ACE formu ile sekrete edilen ACE formu arasındaki yapısal ilişki ve birinin diğerine çevrilme mekanizması bilinmemektedir fakat en olası mekanizma olarak ACE'in hücre dışında kalan kısmının kesildiği düşünülmektedir (107). Testiküler enzim çözünebilir formdadır, pulmoner enzim ise endotel hücre membranlarına bağlı durumdadır (23). Çözünebilir ve membrana bağlı formlarda katalitik ya da kinetik özellikler açısından belirgin farklar bulunamamıştır (80).

Yeni sentezlenmiş ACE proteini endoplazmik retikulumdan golgi aparatına oradan da plazma membranına gider (107). Hücreye bağlı sACE bağlantı bölgesinin proteolitik yıkımıyla dolaşımda gezen serbest sACE haline gelebilir (55).

tACE, spermatogenez sırasında özellikle mayozun tamamlanmasından sonra ve spermiyogenez boyunca erkek germ hücrelerinden eksprese olur (79, 102, 123, 124). tACE mRNA'sı spermatositlerde bulunmasına rağmen tACE

proteini ilk olarak Franke ve ark. tarafından post mayotik step 3 spermatidlerde bulunmuş ve ileri farklılaşma basamakları boyunca dikkat çekecek derecede artmıştır. Enzim uzayan spermatidlerin adluminal membranında sınırlanmış ve salınıp ejaküle edilmiş spermin boyun ve orta bölgesinde lokalize olmuştur (103).

Majör tACE aktivitesi öncelikle spermatidler, rezidüel cisimcikler, epididimal spermatozoa ve sitoplazmik damlacıklar tarafından eksprese edilir. Bu nedenle tACE aktivitesi ilerlemiş farklılaşan spermatogenik hücreler için yeni bir belirteç olabilir (145).

tACE'in in vivo rolü hakkında çok yorum yapılmaktadır (4). Spermiyogenez ve epididimal sperm maturasyonu sırasındaki rolü henüz net olarak tespit edilememiştir (145). Erkek farelerde ACE yokluğu fertilitede gerileme meydana getirirken dişilerde fertilité normal bulunmuştur (37, 38, 49, 75). Erkek fertilitesindeki etki tACE'in kaybına dayandırılmıştır çünkü sACE'in selektif yokluğundaki farelerde fertilité normal bulunmuştur (49). Hagaman ve ark. ACE'in erkek üreme fonksiyonlarındaki önemli etkisinin sadece tACE aracılığıyla olduğunu göstermiştir. Aynı araştırmacılar her iki ACE formunu da içermeyen farelerde çiftleşme davranışı, testis histolojisi ve fizyolojik sperm fonksiyonları normal olmasına rağmen ciddi derecede azalmış ovidukt transportu ve zona pellusida bağlantısı bulmuşlardır (49). Kessler ve ark. sACE'in sperm spesifik ekspresyonunun tACE yerine geçmeyeceğini göstermişlerdir. tACE'in fertilizasyon sürecindeki rolü non-enzimatik de olabilir; tACE'in N-uç bölgesi dışı genital yolunda henüz bilinmeyen substratları bağlayan bir molekül olarak görev alabilir (67).

Özetle tACE postmayotik germ hücrelerinden salgılanan ve RAS'ın diğer elemanlarıyla birlikte spermatogenezin devamlılığında, sperm kapasitasyonunda ve fertilizasyonda rolü olduğu düşünülen bir enzimdir.

Biz bu çalışmada, sıçanlarda deneysel oluşturulacak tek taraflı testis torsiyonu sonucunda karşı testiste tACE aktivitesinde meydana gelecek değişimlerin immünohistokimyasal değerlendirilmesini ve seminifer tübüllerle germinal epitel hücrelerinde oluşacak değişimlerin ışık mikroskopik ve elektron mikroskopik olarak incelenmesini amaçladık.

4.GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (FÜTDAM) temin edilen 150-250 gr ağırlığında 36 adet 9-11 haftalık, erişkin, Wistar-Albino türü erkek sıçanlar kullanıldı. 21°C oda ısısında 12 saat ışık (7:00-19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00- 07:00) tutulan sıçanlar, özel olarak yaptırılan kafeslerde beslendi. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda verildi. Hayvan yemleri Yem Sanayi T.A.Ş. Elazığ Yem Fabrikasında hazırlandı. Yemlerin terkibi aşağıdaki tabloda gösterilmektedir (Tablo 1).

Tablo 1: Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin terkibi.

Buğday (%)	15
Mısır (%)	10
Arpa (%)	27
Kepek (%)	8
Soya (%)	29,4
Balık Unu (%)	8
Tuz (%)	0,6
Kavimix VM 23-Z (%) [*]	0,2
Methionin (%)	0,2
DCP (%) ^{**}	1,6

^{*} 1 gramında : 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0,8 mg K₃, 0,8 mg B₁, 2,4 mg B₂, 1,2 mg B₆, 0,006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth., 0,32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0,06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca bulunur.

^{**} % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0,2 flor'dan oluşur.

Çalışmada kullanılan sıçanlar 6 gruba ayrıldı.

Grup I – Kontrol grubu (n: 6)

Grup II – Testislerin alt ve üst kutuplarına dikiş atılıp, 12 saat sonra dikişlerin alındığı ve 24 saat sonra testislerin çıkarıldığı sham grubu (n:6)

Grup III – Sol testisin 6 saat torsiyonundan sonra sağ testisin alındığı grup (n:6)

Grup IV- Sol testisin 6 saat torsiyondan sonra detorsiyone edildiği ve 24 saat sonra sağ testisin alındığı grup (n:6)

Grup V- Sol testisin 12 saat torsiyonundan sonra sağ testisin alındığı grup (n:6)

Grup VI- Sol testisin 12 saat torsiyondan sonra detorsiyone edildiği ve 24 saat sonra sağ testisin alındığı grup (n:6)

Deneklere 50 mg/kg/ip ketamin uygulandıktan sonra batın orta hat laparotomi insizyonu ile açıldı. Testisler karın içine alındı. Sol testisler 720° saat yönü tersine torsiyone edildikten sonra alt ve üst kutuplarından karın duvarına tespit edildi. Torsiyon gruplarında, torsiyon süresi sonunda anestezi altında laparotomi ile sağ testisler eksize edilip, sıçanlar dekapite edilerek sakrifiye edildi. Detorsiyon gruplarında ise torsiyon süreleri tamamlandıktan sonra aynı insizyonla tekrar batına girildi. Torsiyone edilen testislerin tespit sütürleri alındı. Testisler detorsiyone edilerek normal konumlarında tekrar batına bırakıldı. Detorsiyondan 24 saat sonra tekrar anestezi altında laparotomi ile sağ testisler eksize edilip, sıçanlar dekapite edildi.

Testisten alınan örneklerin bir kısmı Bouin solüsyonunda 9 saat tespit edildikten sonra % 60'lık ve % 70'lik alkollerde 12'şer saat yıkandı. Yıkanan dokular dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Parlatma ve emdirme işlemlerinden sonra parafin bloklara (Sigma-paraplast embedding

media, Stenheim, Germany) gömüldü. Bu parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Masson'un üçlü boyası ve Periodic Acid Schiff (PAS) metodları ile boyandı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BH-2) incelenip fotoğraflandı.

4.1 İmmunohistokimya

Testis dokusunda tACE immunreaktivitesinin belirlenmesi için Avidin-Biotin-Peroksidaz yöntemi uygulandı. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 2). Parafin bloklardan 5-6µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. İmmünohistokimyasal boyama prosedüründe Goat Immunocruz Staining System (Santa Cruz Biotechnology, California, USA) kullanıldı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildikten sonra antigen retrieval metodu uygulandı. Bunun için kesitler, %10'luk sitrat tampon solüsyonu içinde, mikrodalga fırında, 700 W'da 10 dk. kaynatılıp, daha sonra 20 dk. oda ısısında soğumaya bırakıldı. Distile suyla yıkandıktan sonra kesitler, endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için peroksidaz blokla inkübe edildi. Zemin boyanmasını engellemek için % 5'lik normal keçi serumuyla muameleden sonra primer antikor (ACE goat polyclonal Ig G, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) ile 2 saat inkübe edildi. Daha sonra biotinli sekonder antikor, streptavidin HRP ve DAB kromojeni ile muamele edilip, Harrison Hematoksilenle zıt boyama yapıldı. Negatif kontrollerde primer antikor yerine, normal goat Ig G kullanıldı, diğer basamaklar aynı şekilde uygulandı. Alkol ve ksilolden geçirilen dokular Kanada balzamu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BH-2) incelenerek fotoğraflandı.

Her bir gruptan 250 adet tACE immünpozitif seminfer tübül sayılıp, reaksiyon  iddetlerine göre 0'dan 4'e kadar (yok=0, hafif=1, orta=2,  iddetli=3, çok  iddetli=4) skorlanıp, semikantitatif olarak değerlendirildi.

4.2 Elektron Mikroskop

Elektron mikroskopik inceleme için testisten alınan dokuların bir kısmı yaklaşık 1mm³ büyüklüğünde kesilip, fosfat tamponlu %2,5'luk gluteraldehit solusyonunda (pH:7,4) 72 saat tespit edildi. Daha sonra fosfat tamponla yıkanan dokular, %1'lik osmium tetraoksit ile 1 saat boyunca ikinci kez tespit edildi. Dokular tekrar fosfat tamponla 3'er kez 10'ar dk. yıkandıktan sonra dereceli aseton serilerinden geçirilerek (%30: 10dk., %60: 10 dk., %90: 10 dk., %100: 10dk., %100:10 dk.) dehidrate edilip, Araldit Cy212 + DDSA + BDMA karışımına gömüldü. Etüvde 24 saat 40 C'de, 48 saat de 60 C'de bekletildi. Hazırlanan bloklardan ultramikrotomda 80 nm kalınlığında kesitler alındı, kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyandıktan sonra Zeiss Libra 120 TEM (Carl Zeiss NTS GmbH. Oberkochen, Germany) de incelenerek fotoğraflar çekildi.

4.3 İstatistiksel Analiz

Yapılan çalışmada testis torsiyonunun tACE immünreaktivitesi üzerine etkisi istatistiksel olarak değerlendirildi. Gruplarda deneklerden elde edilen skorların aritmetik ortalamaları alındı. Değerler ortalama   standart sapma olarak verildi. Gruplar arasındaki ikili kar ıla tırmalar Mann- Whitney U testi ile yapıldı. p< 0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo 2: İmmunohistokimyasal boyama prosedürü.

Sıra	İşlem	Süre
1	Xylol I	5 dk.
2	Xylol II	5 dk.
3	Xylol III	5 dk.
4	% 100 Alkol	10 dk.
5	%96 Alkol	10 dk.
6	% 80 Alkol	10 dk.
7	% 70 Alkol	10 dk.
8	Distile suyla yıkama	2×1dk.
9	Mikrodalgada kaynatma	2×5 dk.
10	Oda ısısında soğutma	20 dk.
11	Distile suyla yıkama	3×2 dk.
12	Peroksidaz blok	5 dk.
13	PBS	3×5 dk.
14	Normal serum	20 dk.
15	Primer antikor	2 saat
16	PBS	3×5dk.
17	Sekonder antikor	30 dk.
18	PBS	3×5 dk.
19	Streptavidin HRP	30 dk.
20	PBS	3×5 dk.
21	DAB kromojen	2-3 dk.
22	Distile suyla yıka	2 dk.
23	Hematoksilen	4 dk.
24	Musluk suyu	5 dk.
25	Distile su	Yıka
26	%70 Alkol	5 dk.
27	%80 Alkol	5 dk.
28	% 96 Alkol	5 dk.
29	%100 Alkol	5 dk.
30	Xylol I,II,III	5'er dk.
31	Kapatma	

5. BULGULAR

5.1 Işıık Mikroskobik Bulgular

Kontrol grubuna ait testis dokusu kesitlerinde tunika albuginea, seminifer tübül kontürleri ( ekil 7), seminifer tübüllerin germinal epitel ( ekil 8) ve interstisyel alanda bulunan Leydig hücreleri ( ekil 9) normal yapıda gözlendi. PAS boyamasında da seminifer tübüllerin bazal membranları ( ekil 10) normal olarak izlendi.

Sham grubunda da kontrol grubuna benzer olarak seminifer tübüller ( ekil 11), germinal epitel ve Leydig hücreleri ( ekil 12) ile, bazal membran ( ekil 13) normal yapıda gözlendi.

Altı saatlik torsiyon grubunda sağ testis dokusu kesitlerinde kontrole yakın görünümde normal yapıda seminifer tübüller yanında ( ekil 14) dejenere olmuş seminifer tübüller de ayırt edildi. Bu tübüllerde piknotik çekirdekli ve heterokromatik çekirdekli germ hücrelerine rastlandı. Germ hücreleri arasında ayrılmalar ve germ hücrelerinin gruplar halinde lümene döküldüğü izlendi Bazı seminifer tübüllerde vakuolizasyon mevcuttu ( ekil 15, 16). Bazı seminifer tübüllerin ise gruplar halinde sıkıca paketlenildiğ  ayırt edildi ( ekil 17). PAS boyamasında ise bazal membran normale yakın olarak gözlendi ( ekil 18).

Altı saatlik torsiyon yapıldıktan sonra 24 saat detorsiyon uygulanmış grupta karşı testiste seminifer tübüllerin sıkıca paketlenildiğ  izlendi ( ekil 19). Tunika albuginea altındaki damarlarda konjesyon ve yer yer hiperemi mevcuttu ( ekil 20). Bazı seminifer tübüllerde germ hücreleri arasında ayrılmalar tespit edildi ( ekil 21).

Oniki saatlik torsiyon grubunda karşı testiste bazı tübüller sıkıca paketlenmiş (Şekil 22), bazı tübüller ise dejeneratif görünümdeydi (Şekil 23). Bazı tübüllerin bütünlüğü bozulmuştu. Germ hücreleri arasında ayrılmalar (Şekil 24) ve bazal membranda dejenerasyonlar mevcuttu (Şekil 25). Germ hücrelerinin gruplar halinde lümene döküldüğü tespit edildi (Şekil 26). Bazı tübüllerde ise spermatositlerde metafaz arresti izlendi (Şekil 27). PAS boyamasında yer yer tübül çeperinde bazal membranda bozulma mevcuttu. Ayrıca spermatogonyumların bazal membrandan ayrıldıkları saptandı (Şekil 28).

Oniki saatlik torsiyondan sonra 24 saat detorsiyon uygulanan grupta karşı testis seminifer tübüllerinin kontrole göre daha hasarlı olduğu gözlemlendi (Şekil 29). Diğer gruplara oranla daha çok sayıda tübülde germ hücreleri arasında ayrılmalar (Şekil 30) ve germ hücrelerinin gruplar halinde lümene döküldüğü saptandı (Şekil 31). Bazı tübüllerde germinal epitelde organizasyon bozukluğu ve heterokromatik çekirdekli germ hücreleri tespit edildi (Şekil 32). Oniki saat torsiyon grubuna göre daha fazla tübülde metafaz arresti (Şekil 33, 34) ve bazal membranda bozulma mevcuttu (Şekil 34).

5.2 İmmünohistokimyasal Bulgular

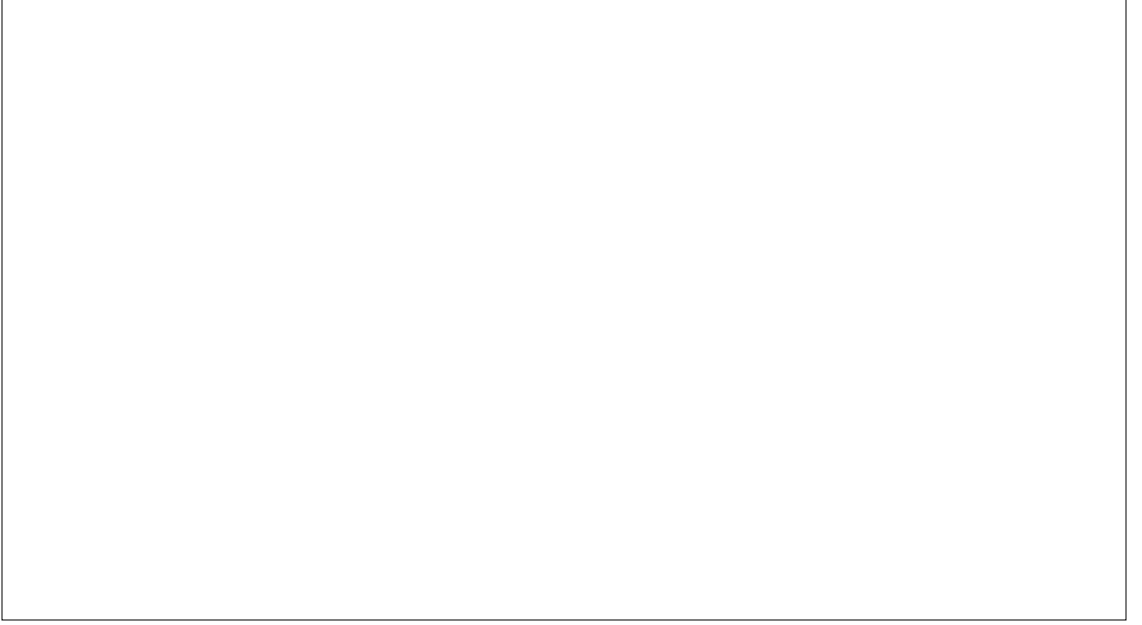
Testis dokusunda kontrol ve deney gruplarında tACE için yapılan immunohistokimyasal boyamada seminifer tübüllerde pozitif boyanma gözlemlendi. Spermatogonyumlarda, primer ve sekonder spermatositlerde tACE immunreaktivitesine rastlanmadı (Şekil 35, 36). tACE immünreaktivitesinin şiddetinde gruplar arasında farklılıklar olmasına rağmen, her seminifer tübülde aynı şekilde mayoz sonrası spermatidler ve spermatozoaların bulunduğu alanların immünreaktif olduğu izlendi (Şekil 37- 41).

Kontrol grubunda tACE immunreaktivite şiddeti $2,72 \pm 0,14$, sham grubunda ise $2,71 \pm 0,15$ olarak saptandı. Altı saatlik torsiyon grubunda tACE immunreaktivite şiddeti $2,16 \pm 0,16$ olarak azalma gösterdi ($p<0.05$). Altı saat torsiyon yapıp 24 saat detorsiyon uygulanmış grupta immunreaktivite şiddeti $2,38 \pm 0,08$ idi. tACE immunreaktivite şiddeti 12 saat torsiyon grubunda $2,64 \pm 0,09$, 12 saat torsiyon yapıp 24 saat detorsiyon uygulanmış grupta $2,47 \pm 0,17$ olarak tespit edildi (Tablo 3 ve Şekil 6).

Negatif kontrol için yapılan boyamalarda seminifer tübüllerde tACE için herhangi bir immunreaktivite yoktu (Şekil 42).

Tablo 3: Tek taraflı testis torsiyonundan sonra karşı testislerdeki ortalama tACE immunreaktivite şiddetleri.

Gruplar	n	Ortalama $\pm$ SS
Grup I	250	$2,72 \pm 0,14$
Grup II	250	$2,71 \pm 0,15$
Grup III	250	$2,16 \pm 0,16^*$
Grup IV	250	$2,38 \pm 0,08$
Grup V	250	$2,64 \pm 0,09$
Grup VI	250	$2,47 \pm 0,17$



Şekil 6: Tek taraflı testis torsiyonundan sonra karşı testislerdeki ortalama tACE immunreaktivite şiddetleri.

5.3 Elektron Mikroskopik Bulgular

Elektronmikroskopik incelemede kontrol ve sham grubuna ait kesitlerde seminifer tübülleri çevreleyen bazal membran (Şekil 43), bazal membran üzerine yerleşmiş olan spermatogonyumlar (Şekil 44) ve Sertoli hücreleri (Şekil 45) normal görünümdeydi. Germinal epitel hücreleri arası bağlantılar normal yapıdaydı (Şekil 46).

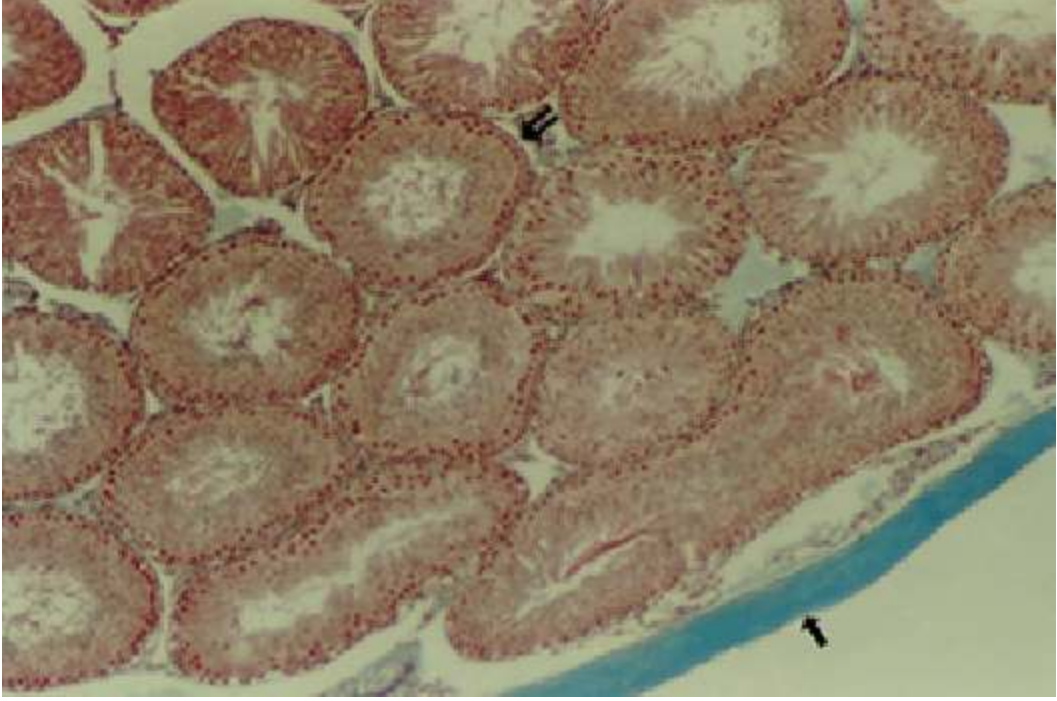
Altı saatlik torsiyon grubunda bazı seminifer tübüllerin bazal membranlarında yer yer incelmeler gözlemlendi (Şekil 47). Sertoli hücreleri normal yapıdaydı (Şekil 48). Spermatogonyum sitoplazmasında ise vakuoller izlendi (Şekil 49). Germinal epitel hücreleri arasında ayrılmalar ve sitoplazmada myelin figürlere rastlandı (Şekil 50).

Altı saatlik torsiyon yapıp 24 saat detorsiyon uygulanmış grupta seminifer tübül bazal membranında incelme izlendi (Şekil 51). Bazal membran

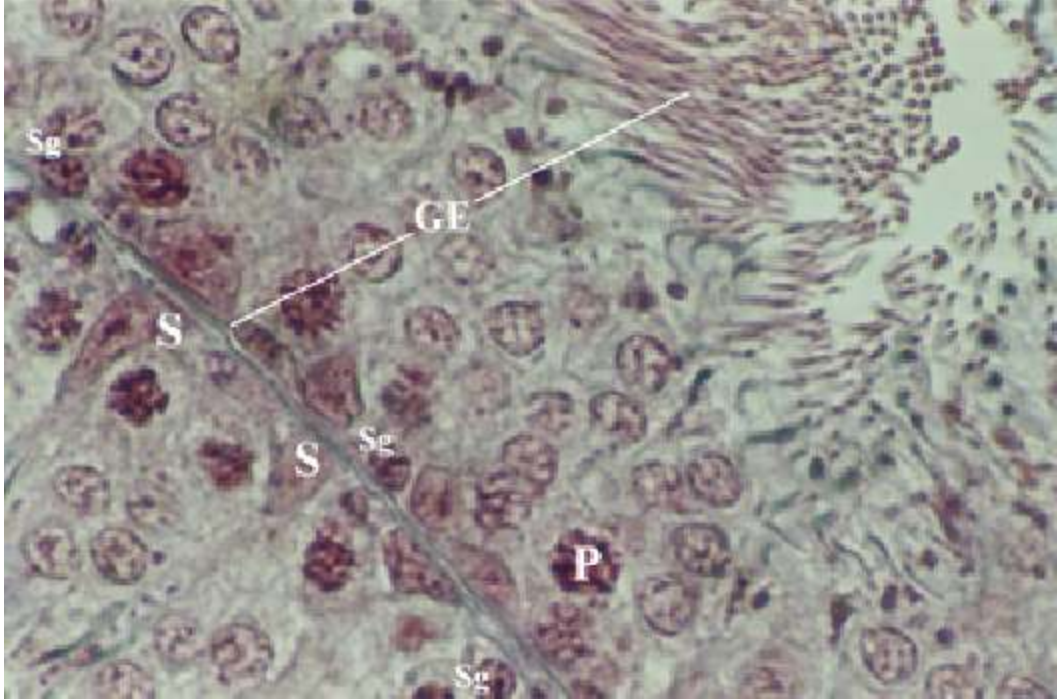
üzerine yerleşmiş Sertoli hücresi ve spermatogonyumda vakuolizasyon gözlemlendi (Şekil 51, 52). Germinal epitel hücrelerinde de intrasellüler vakuolizasyona (Şekil 53) ve hücreler arasında ayrılmayla birlikte bazı hücreler arasındaki ayrılma bölgelerinde myelin figürlere rastlandı (Şekil 54).

Oniki saatlik torsiyon grubunda bazı seminifer tübüllerin bazal membranlarında girinti ve çıkıntılar oluşmuştu (Şekil 55). Bazı hücrelerde ise intrasellüler vakuolizasyon ve hücreler arasında ayrılmalar izlendi (Şekil 56). Daha ileri derecede hasarlı olan hücrelerde nukleusta kromatin yoğunlaşmıştı. Hücre sınırları kaybolmuş, tübül içinde yer yer nekrotik alanlar izlenmekteydi (Şekil 57). Germinal epitel hücreleri arasında bağlantı kaybı ve hücre sitoplazmasında vakuol mevcuttu (Şekil 58).

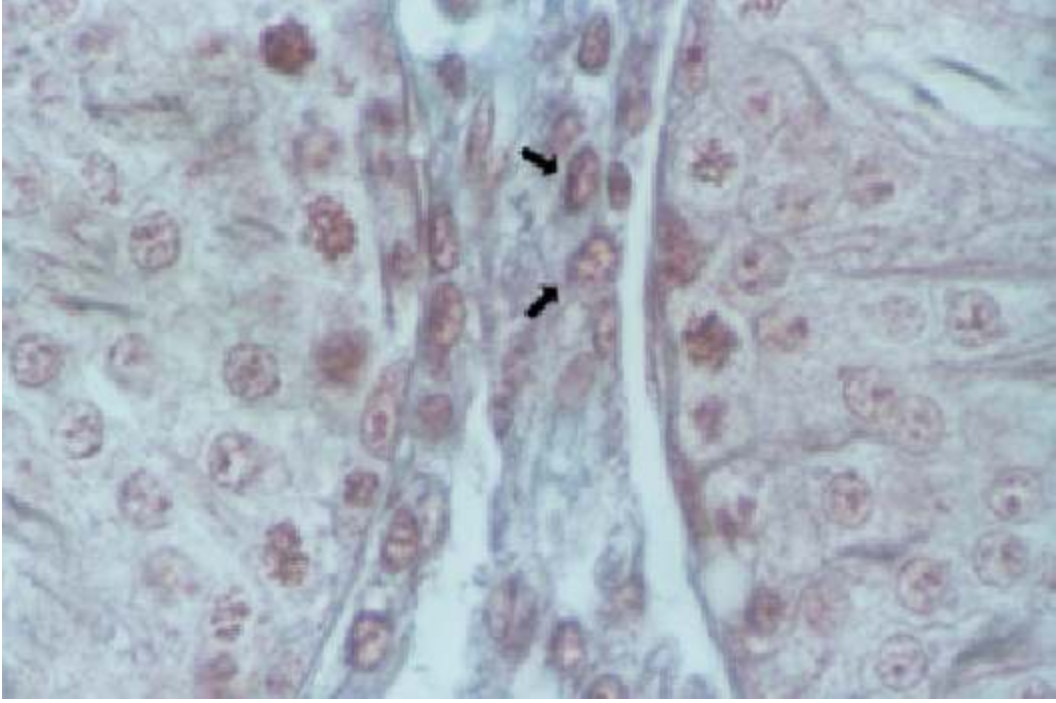
Oniki saat torsiyon yapıldıktan sonra 24 saat detorsiyon uygulanan grupta bazı seminifer tübül bazal membranlarında incelmeye ve spermatogonyumlarda mitokondri hasarları gözlemlendi (Şekil 59). Spermatogonyumlarda intrasellüler vakuolizasyon mevcuttu (Şekil 60) ve bazı spermatogonyumlar bazal laminadan ayrılmışlardı (Şekil 61). Germinal epitel hücreleri arasında da bağlantı kaybı izlendi (Şekil 62).



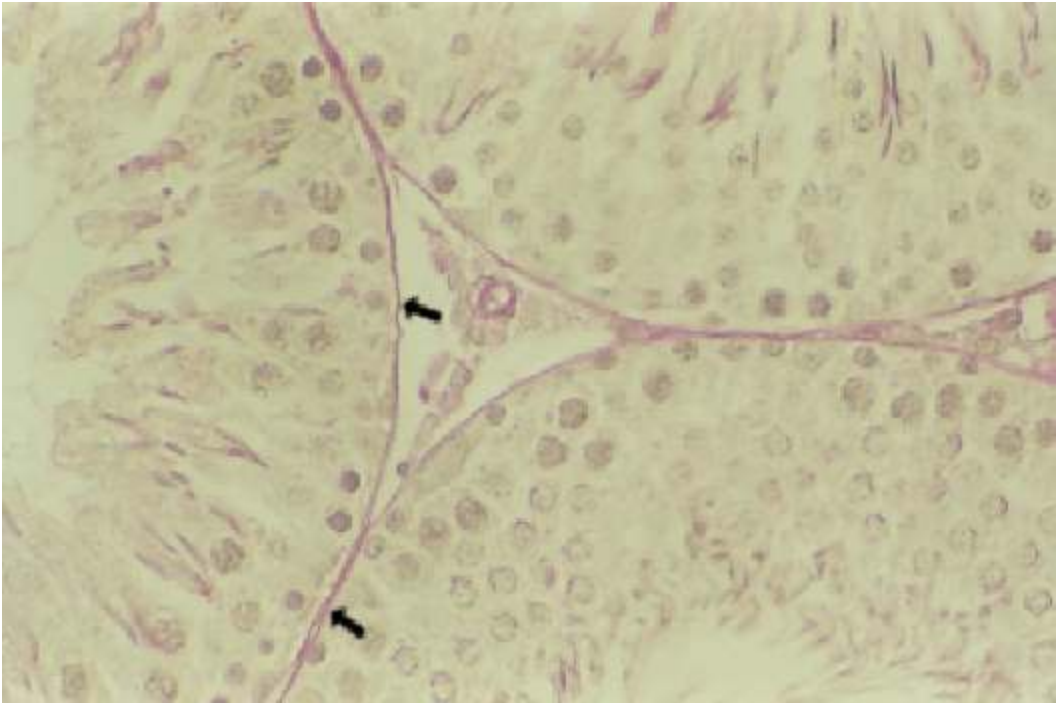
Şekil 7. Kontrol grubu. Testis dokusunda seminifer tübül kontürleri (çift ok) ve tunika albuginea (↑) normal olarak ayırt edilmekte. Masson Trikrom X 4.



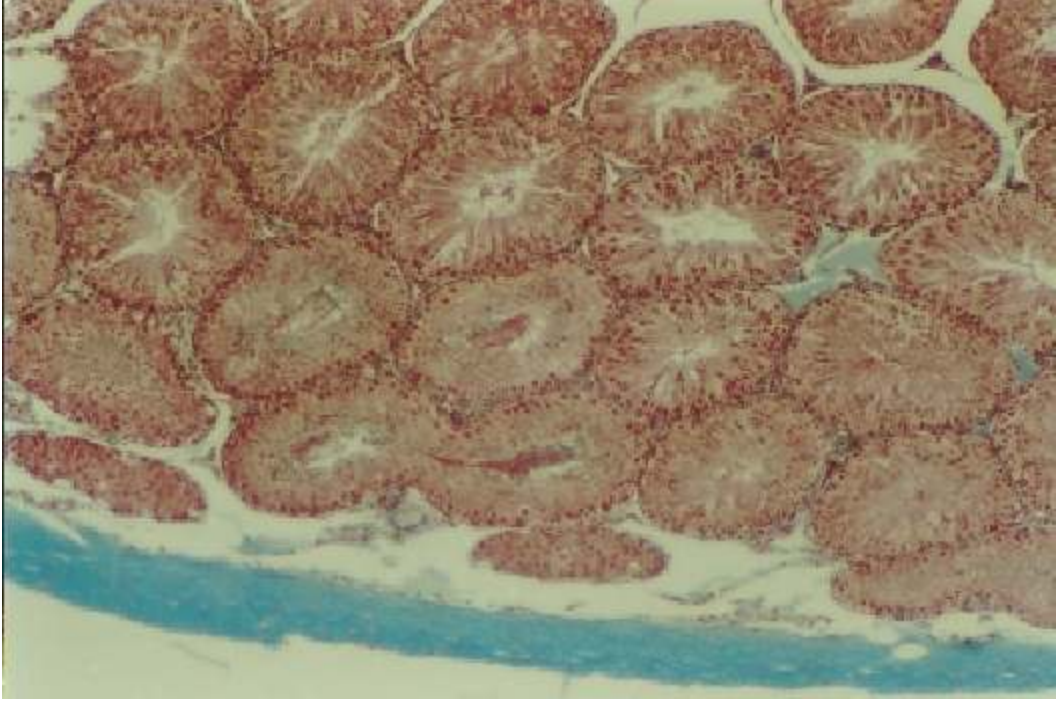
Şekil 8. Kontrol grubu. Seminifer tübüllerin germinal epiteli (GE) normal olarak izlendi. Sg: Spermatogonyum, S: Sertoli hücresi, P: Primer spermatosit. Masson Trikrom X 40.



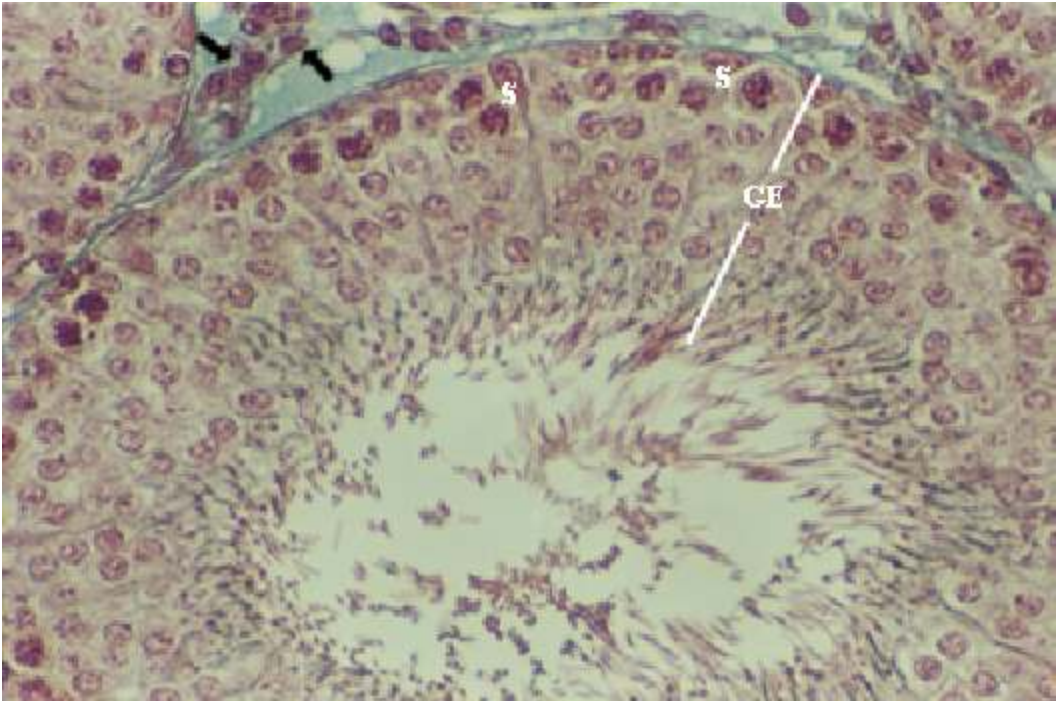
Şekil 9. Kontrol grubu. Leydig hücreleri (➤) gözlenmekte. Masson Trikrom X 40.



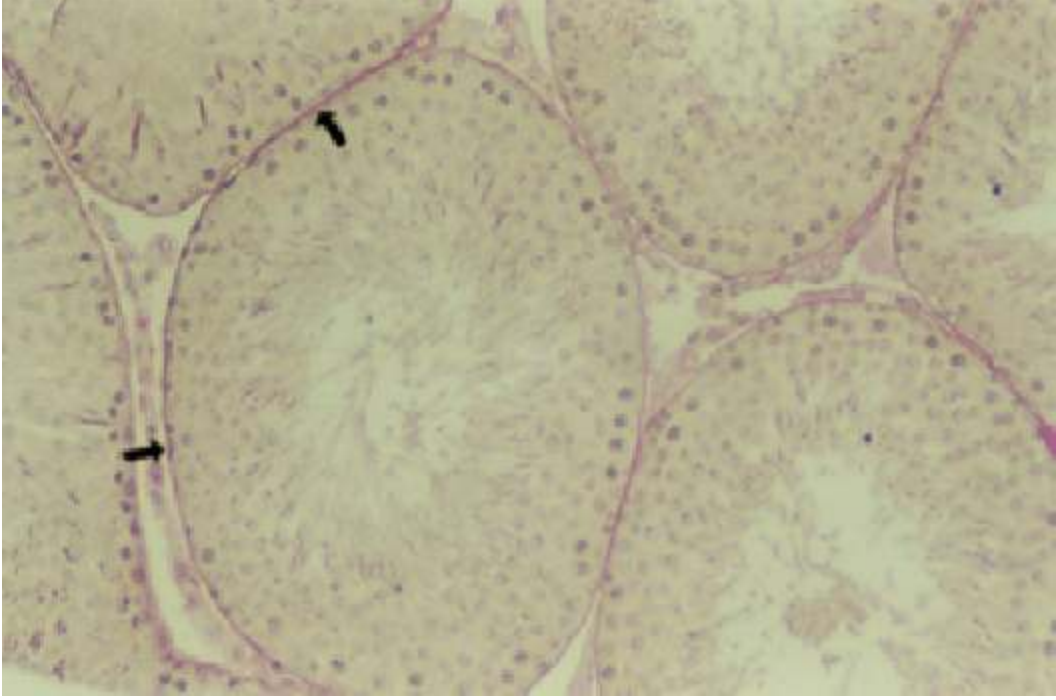
Şekil 10. Kontrol grubu. Seminifer tübüllerin bazal membranları (➤) normal olarak izlenmekte. PAS X 20.



Şekil 11. Sham grubu. Seminifer tübüller normal olarak gözlenmekte. Masson Trikrom X 4.



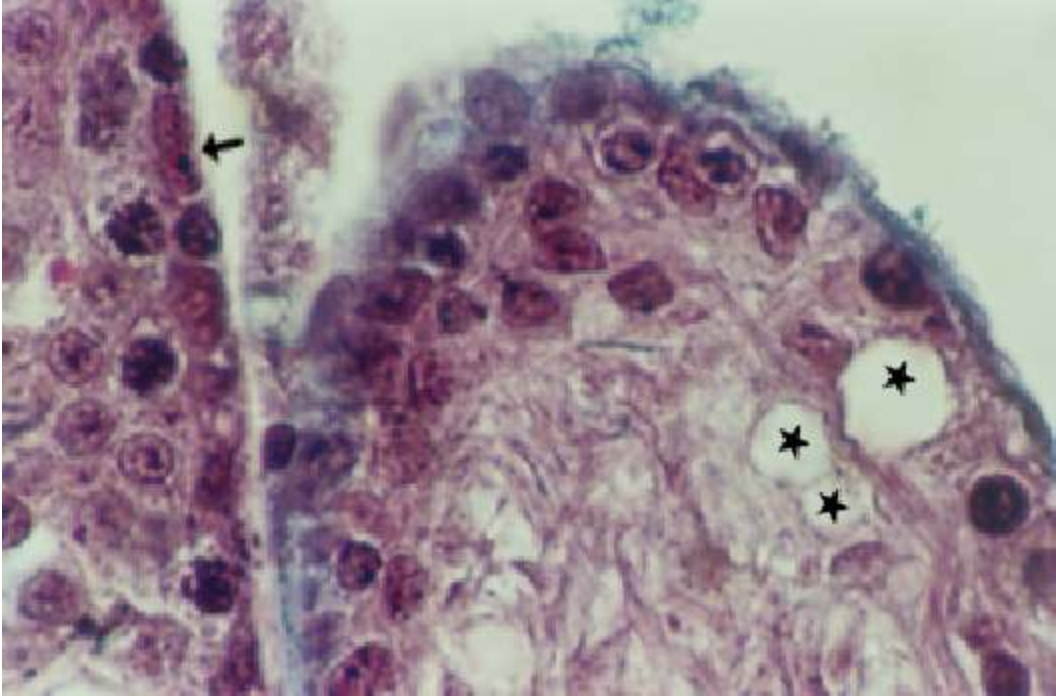
Şekil 12. Sham grubu. Seminifer tübüllerin germinal epiteli (GE) ve Leydig hücreleri (↑) normal olarak izlenmekte. S: Sertoli hücresi. Masson Trikrom X 20.



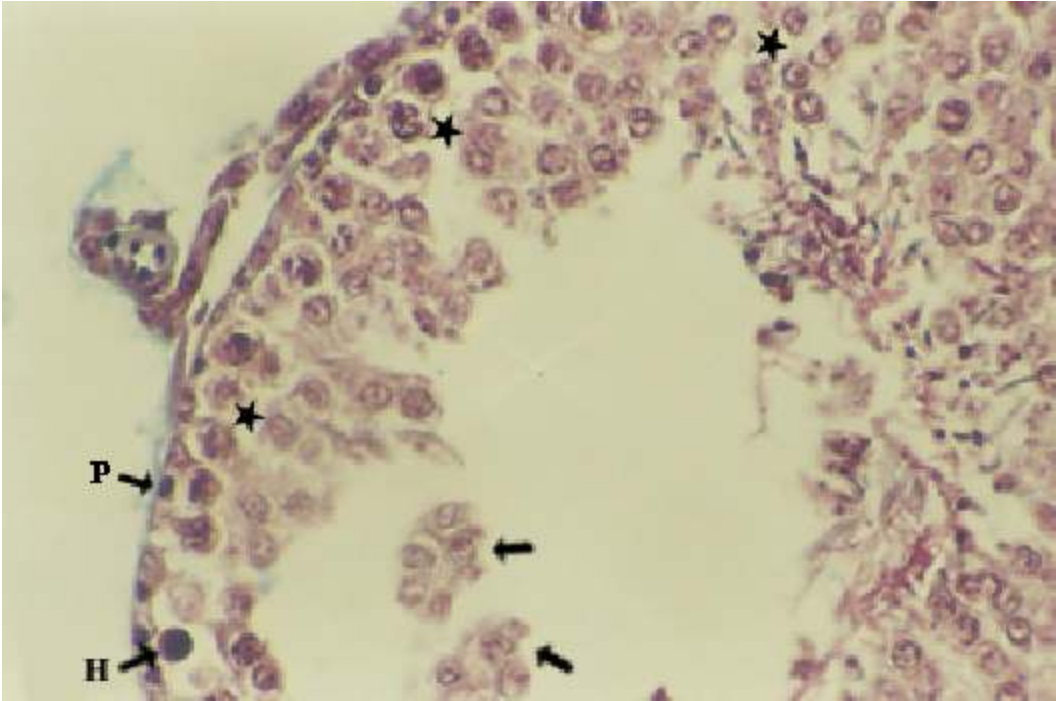
Şekil 13. Sham grubu. Seminifer tübüllerin bazal membranları (↗) normal olarak gözlenmekte. PAS X 10.



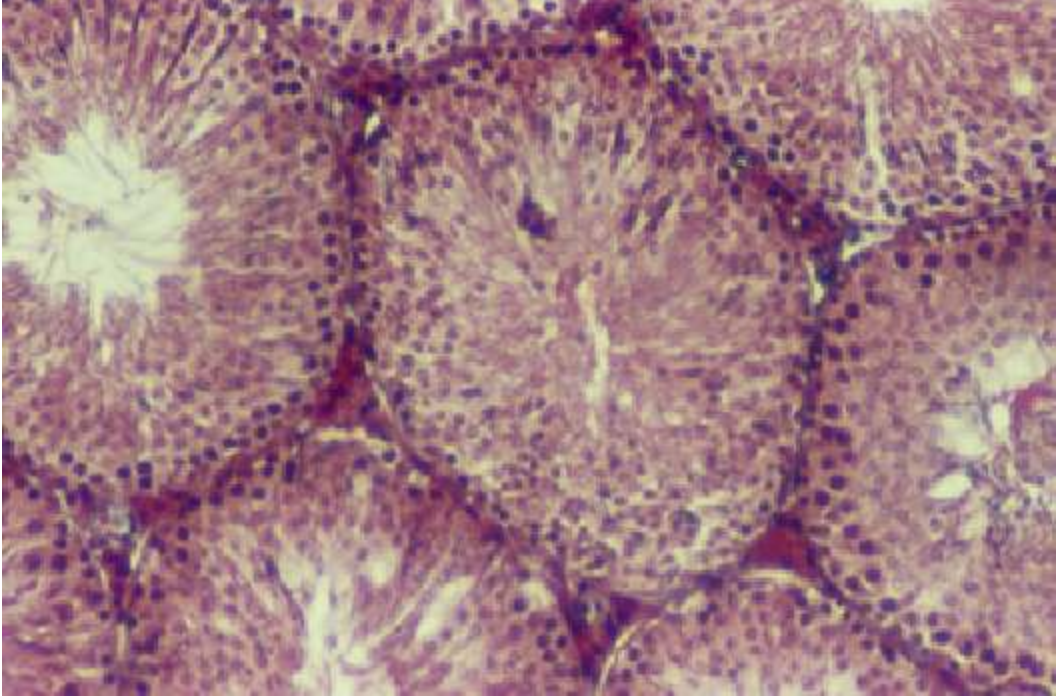
Şekil 14. Altı saat torsiyon uygulanan grup. Kontrole yakın görünümde bir seminifer tübül. Masson Trikrom X 20.



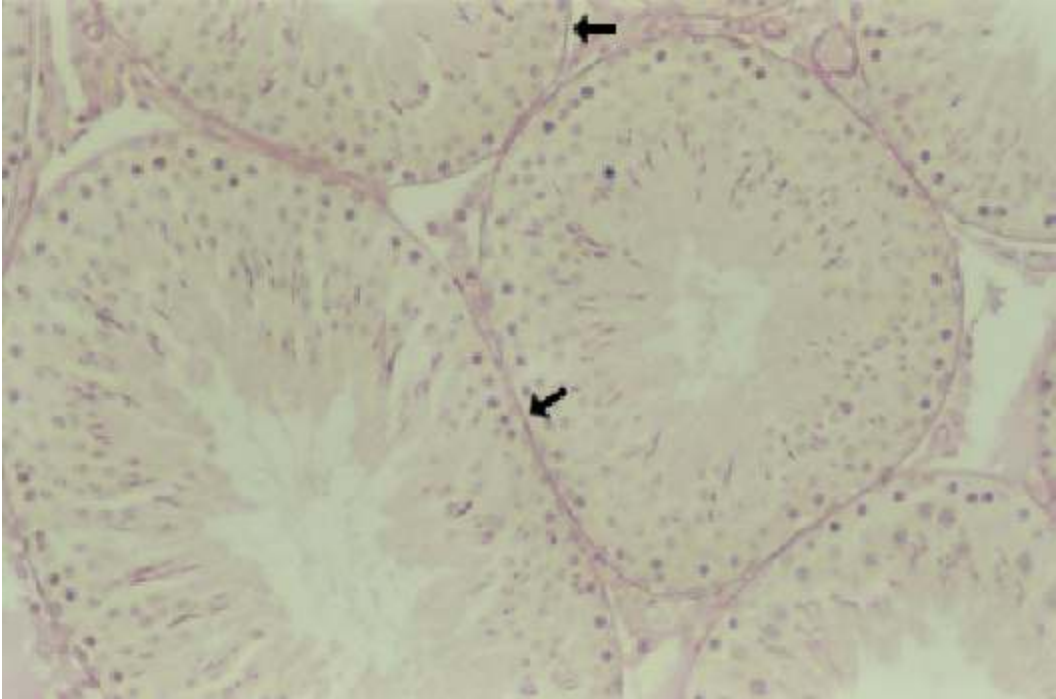
Şekil 15. Altı saat torsiyon uygulanan grup. Vakuolizasyon (★) ve piknotik çekirdekli germ hücresi (⬆) izlenen seminifer tübüller. Masson Trikrom X 40.



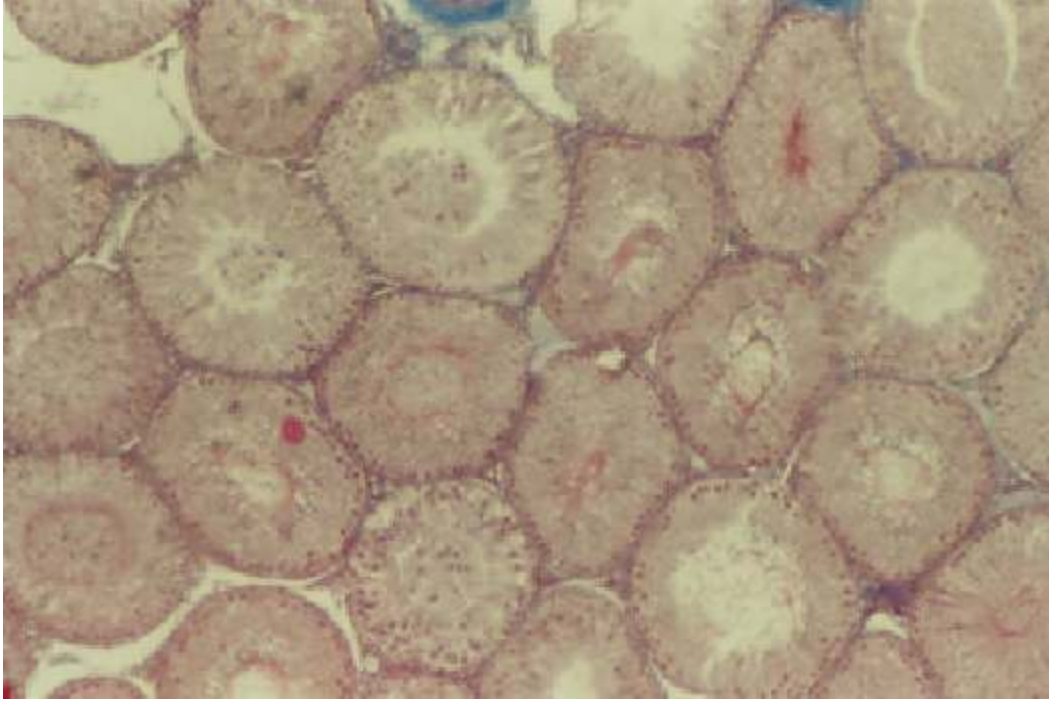
Şekil 16. Altı saat torsiyon uygulanan grup. Dejenere olmuş bir seminifer tübül. Piknotik çekirdekli (P) ve heterokromatik (H) germ hücreleri, germ hücreleri arasında ayrılmalar (★) ve gruplar halinde lümene dökülmüş germ hücreleri (⬆) izlenmekte. Masson Trikrom X 20.



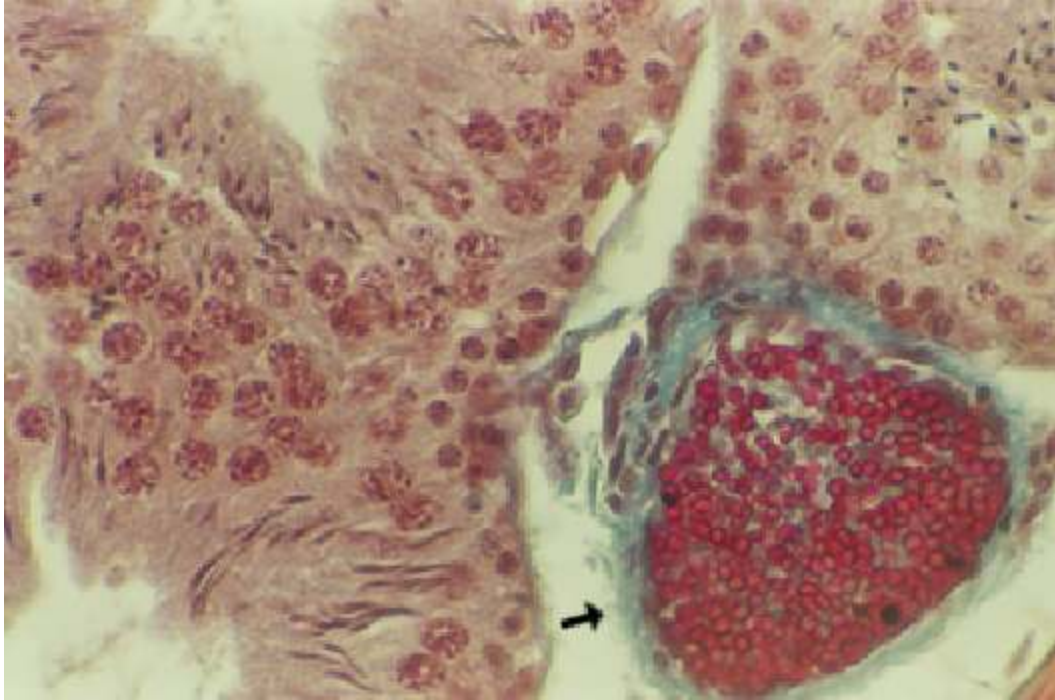
Şekil 17. Altı saat torsiyon uygulanan grup. Sıkıca paketlenmiş bir grup seminifer tübül izlenmekte. Masson Trikrom X 10.



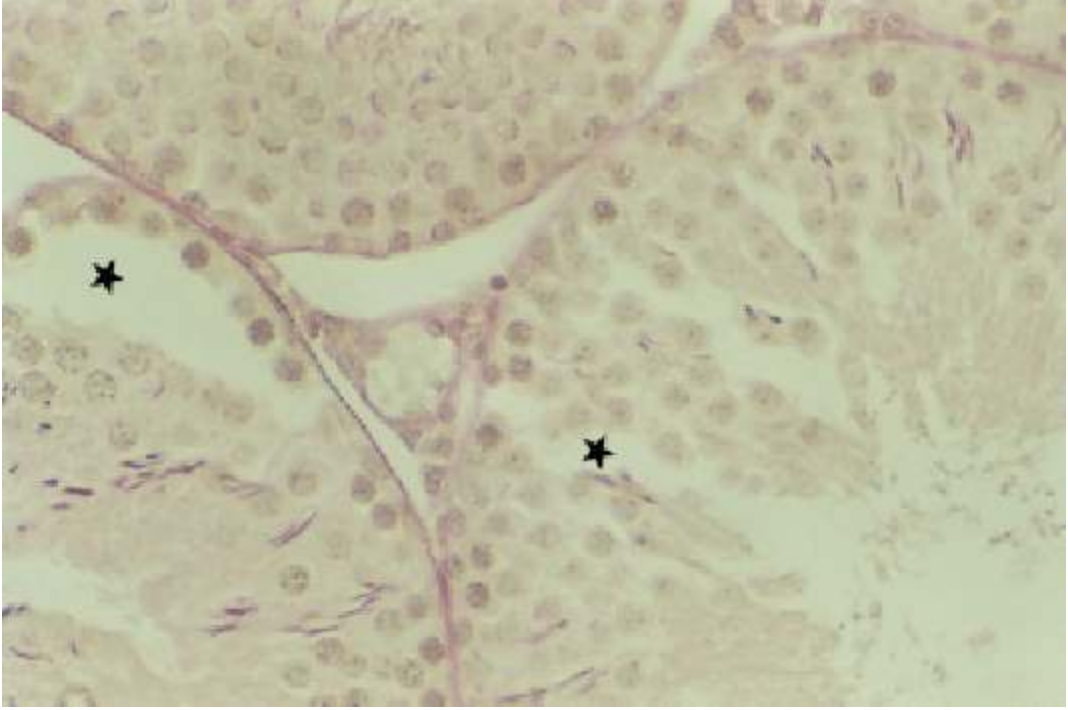
Şekil 18. Altı saat torsiyon uygulanan grup. Bazal membranın (↗) normale yakın olarak gözlendiği seminifer tübüller. PAS X 10.



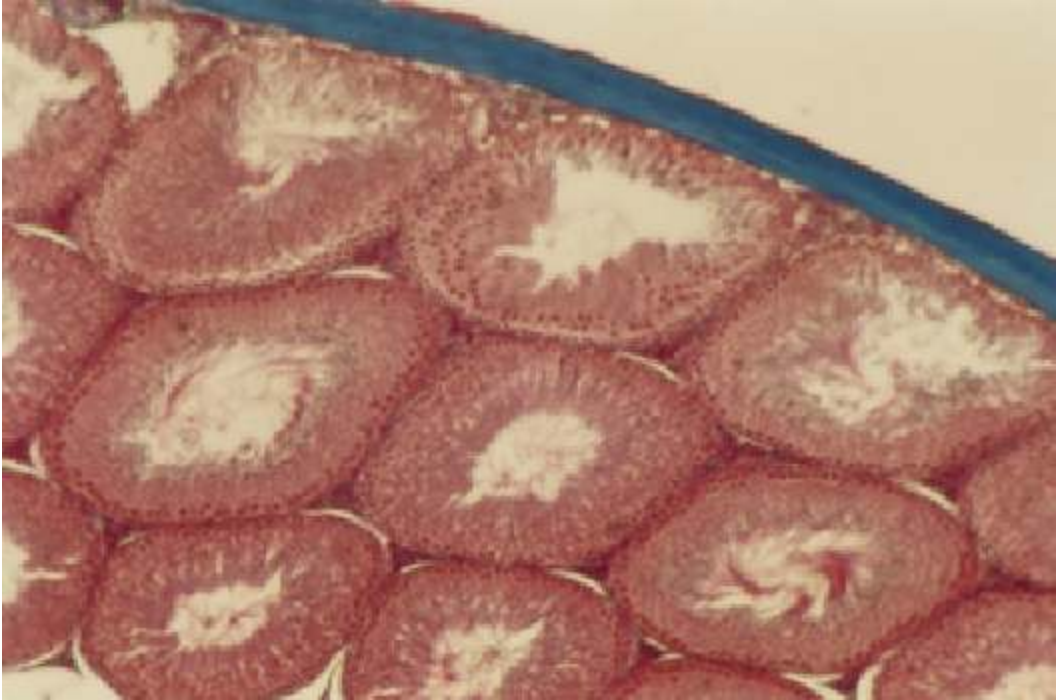
Şekil 19. Altı saat torsiyon ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Seminifer tübüllerin sıkıca paketleniği ayırt edilmekte. Masson Trikrom X 4.



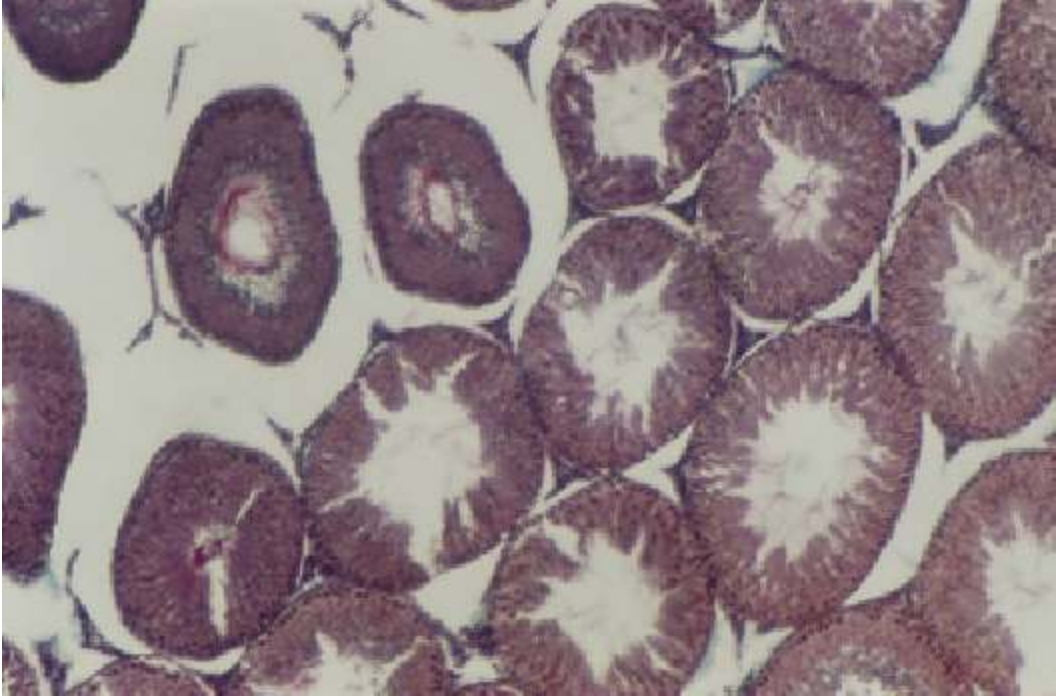
Şekil 20. Altı saat torsiyon ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Tunika albuginea altındaki damarlarda konjesyon ve hiperemi (↗) izlenmekte. Masson Trikrom X 20.



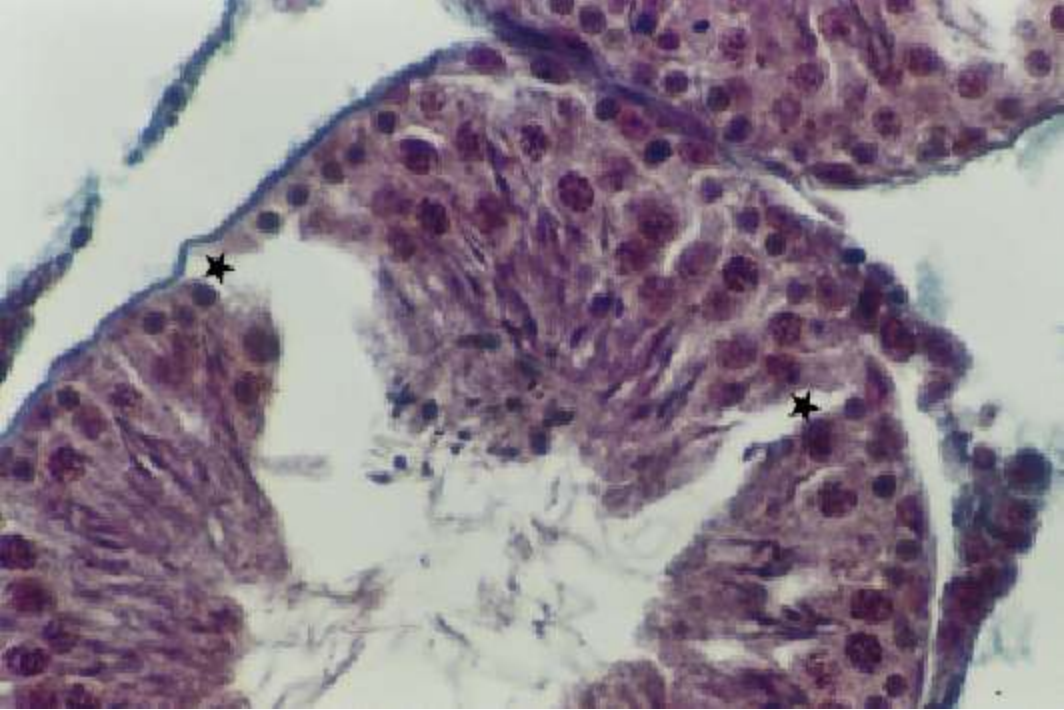
Şekil 21. Altı saat torsiyon ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Germ hücreleri arasında ayrılmalar (★) gözlenen seminifer tübüller. PAS X 20.



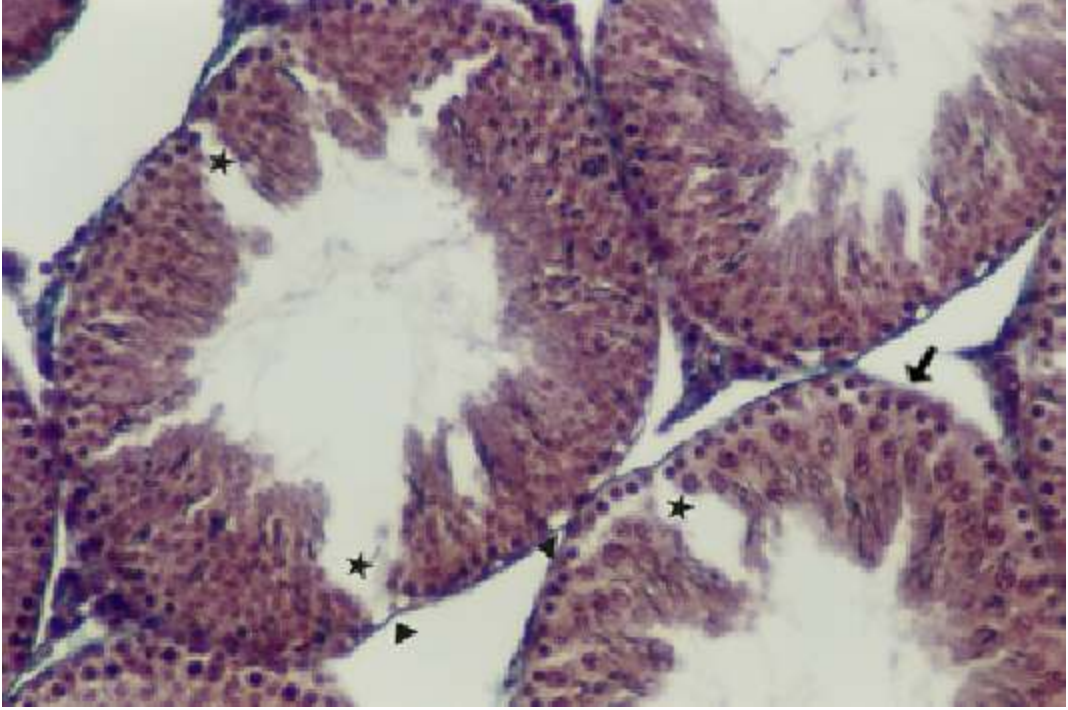
Şekil 22. Oniki saat torsiyon uygulanan grup. Sıkıca paketlenmiş bazı seminifer tübüller izlenmekte. Masson Trikrom X 4.



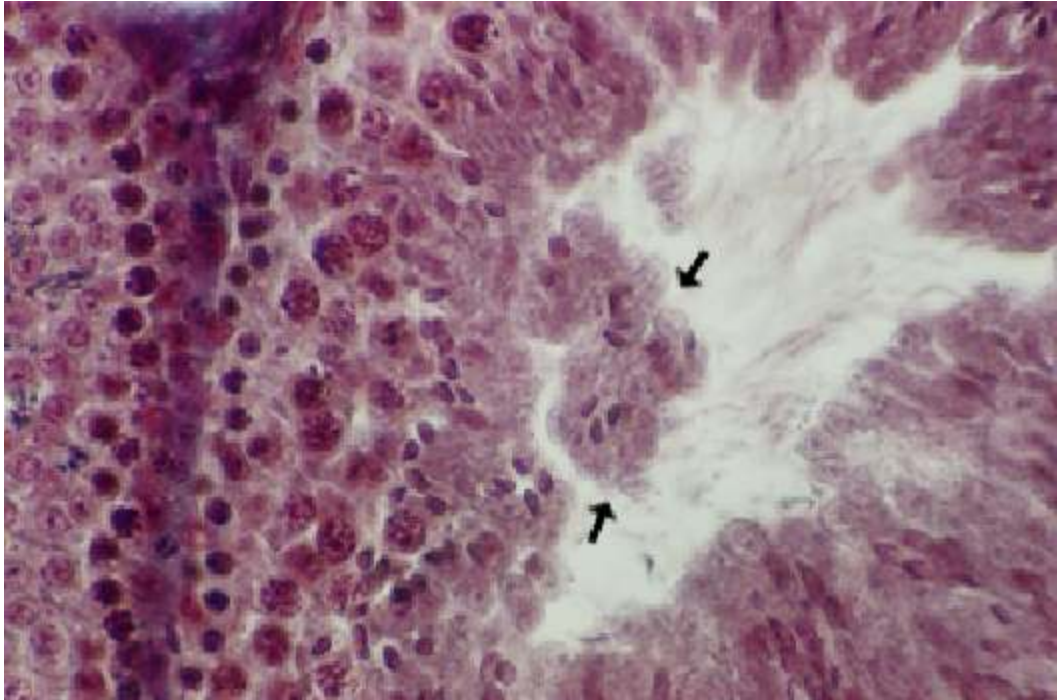
Şekil 23. Oniki saat torsiyon uygulanan grup. Dejeneratif görünümde olan seminifer tübüller ayırt edilmekte. Masson Trikrom X 4.



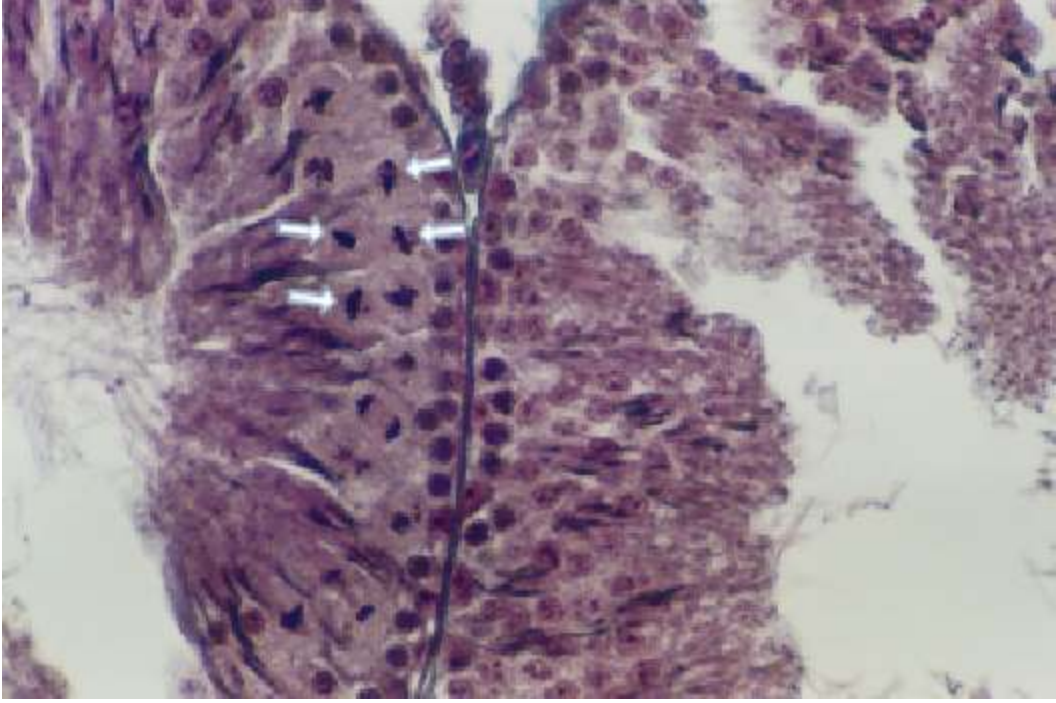
Şekil 24. Oniki saat torsiyon uygulanan grup. Germ hücreleri arasında ayrılmalar (★) gözlenmekte. Masson Trikrom X 20.



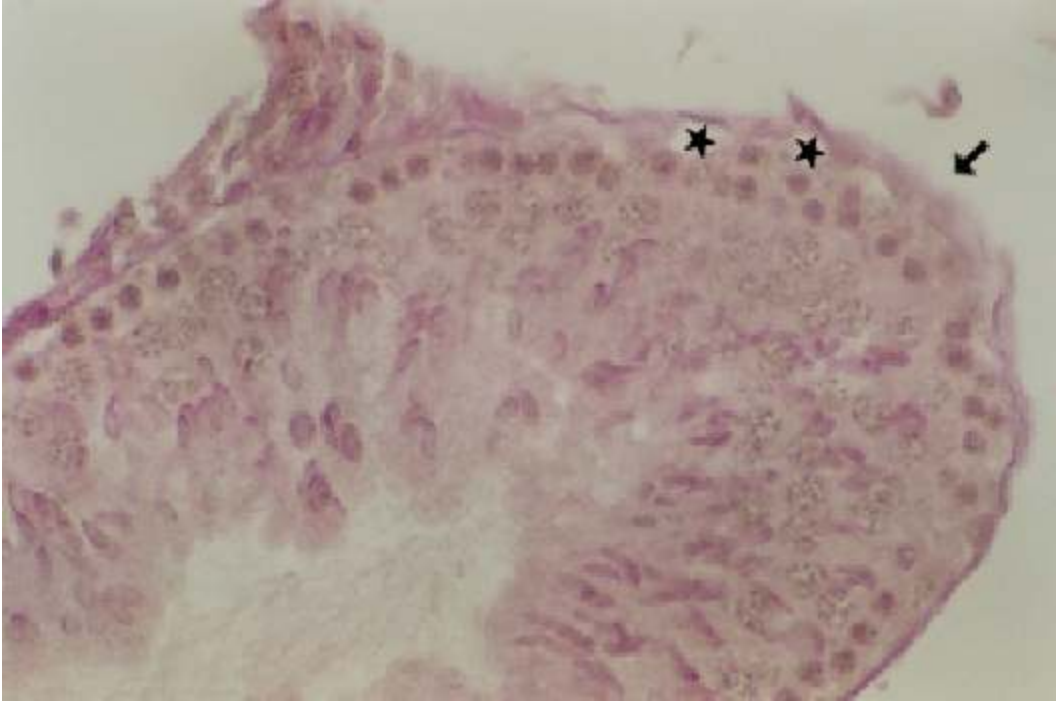
Şekil 25. Oniki saat torsiyon uygulanan grup. Germ hücreleri arasında ayrılmalar (★), germ hücrelerinin bazal membrandan ayrıldığı (ok başı) ve bazal membranda dejenerasyonlar (↗) gözlenmekte. Masson Trikrom X 10.



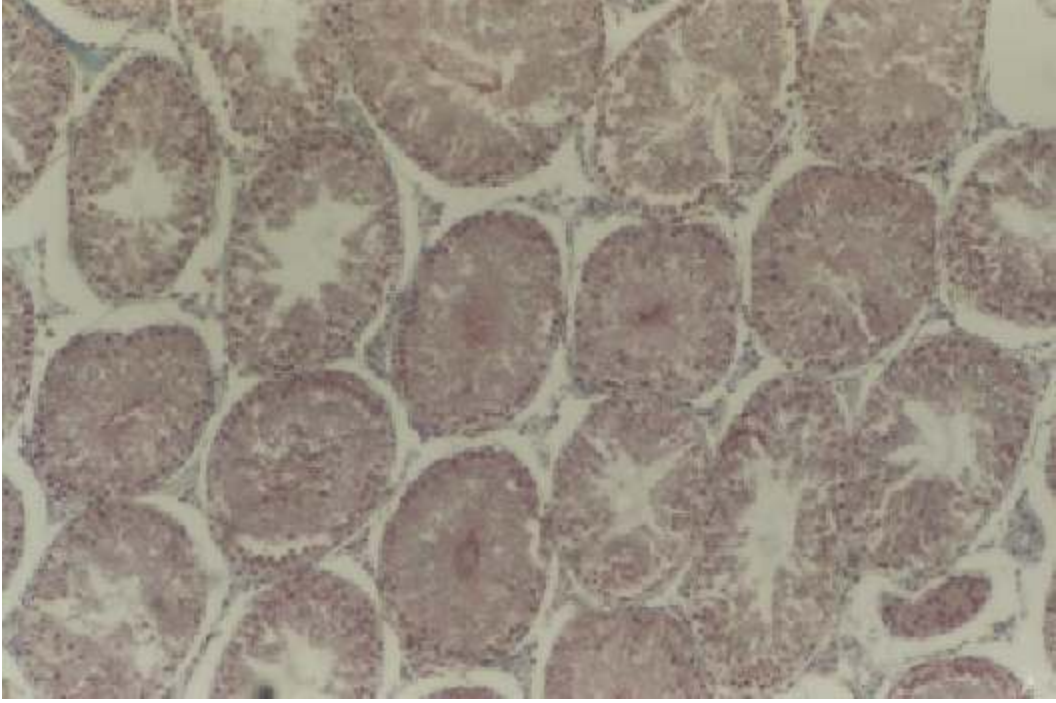
Şekil 26. Oniki saat torsiyon uygulanan grup. Gruplar halinde lümene dökülmüş germ hücreleri (↗) ayırt edilmekte. Masson Trikrom X 20.



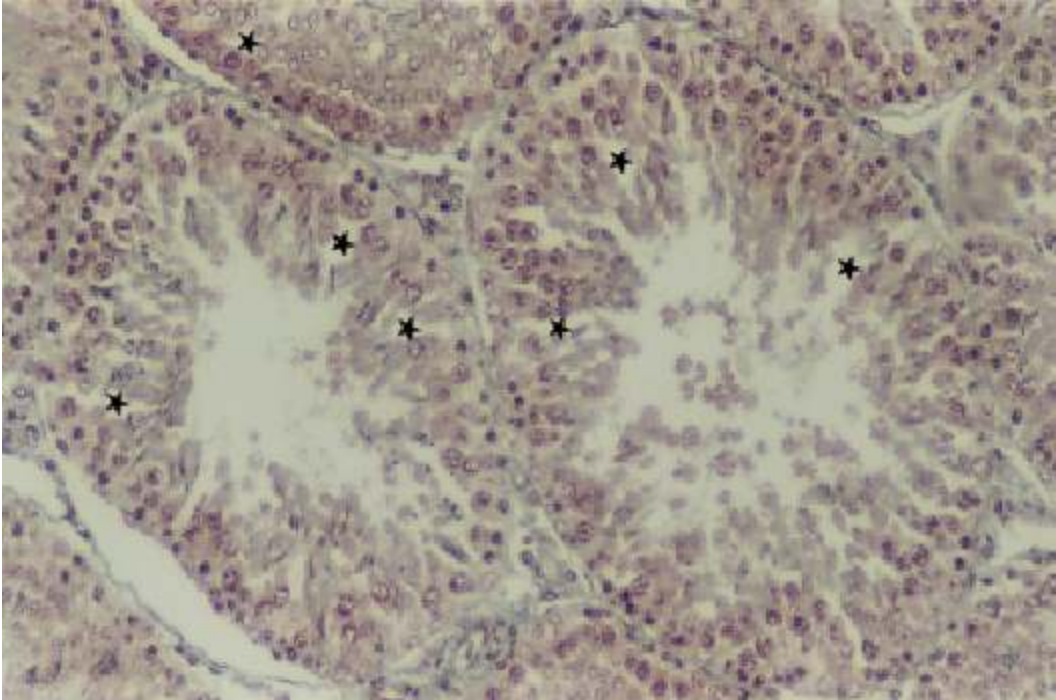
Şekil 27. Oniki saat torsiyon uygulanan grup. Spermatositlerde metafaz arresti izlenen bir seminifer tübül. Masson Trikrom X 20.



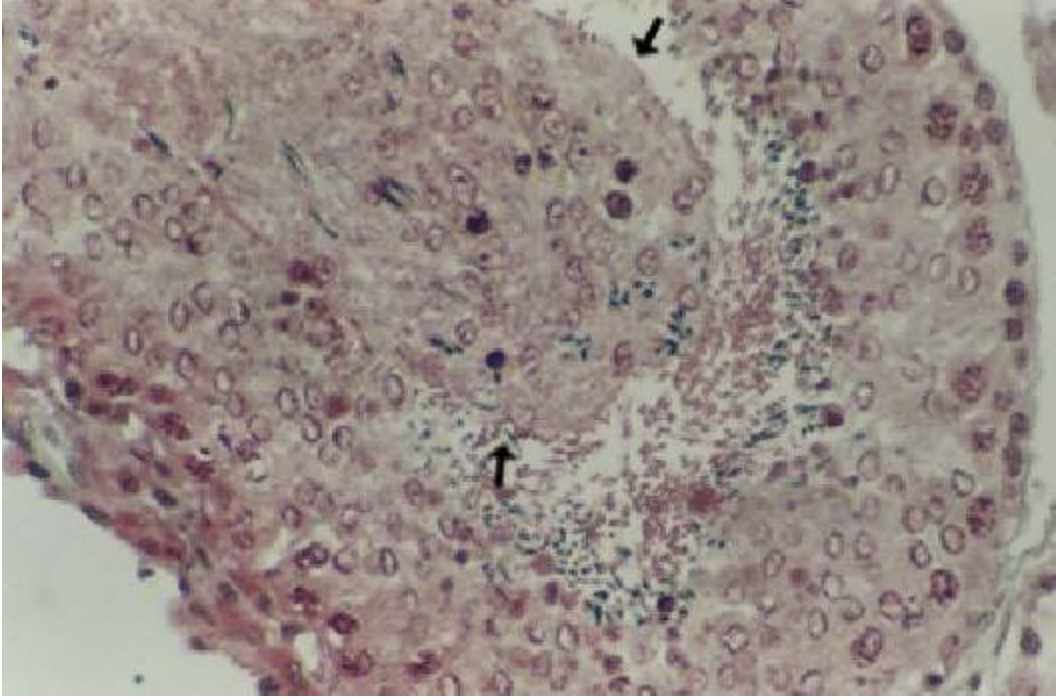
Şekil 28. Oniki saat torsiyon uygulanan grup. Bazal membranda dejenerasyonların (↗) gözleendiği ve bazı spermatogonyumların bazal membrandan ayrıldığı (★) bir seminifer tübül. PAS X 20



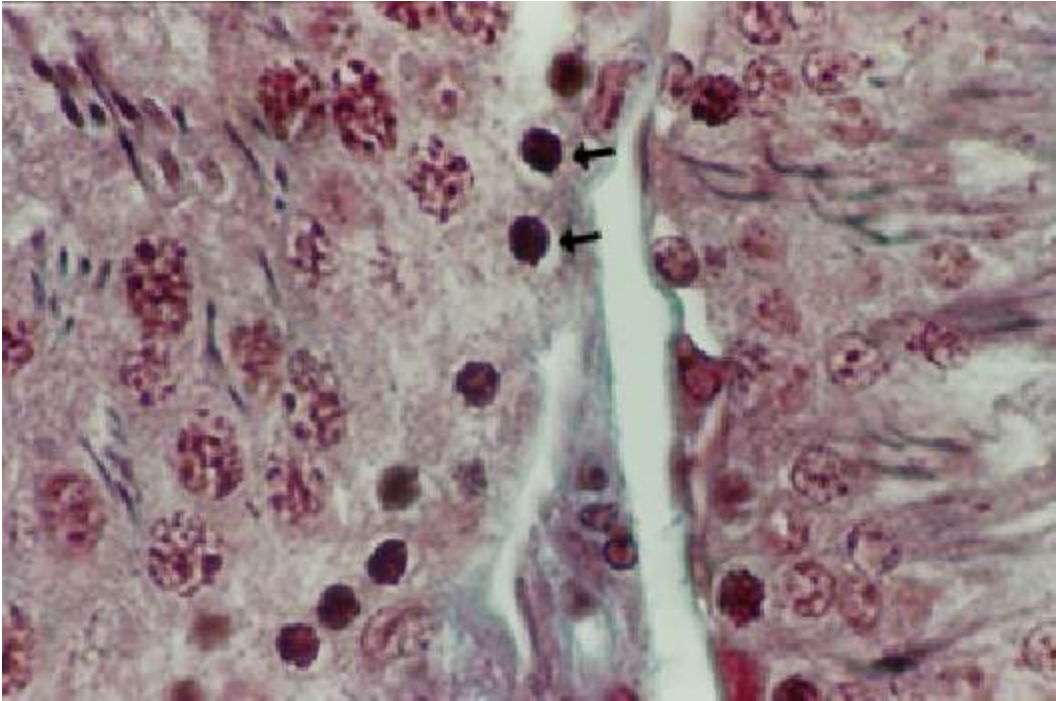
Şekil 29. Oniki saat torsiyonun ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Hasarlı seminifer tübüller gözlenmekte. Masson Trikrom X 4.



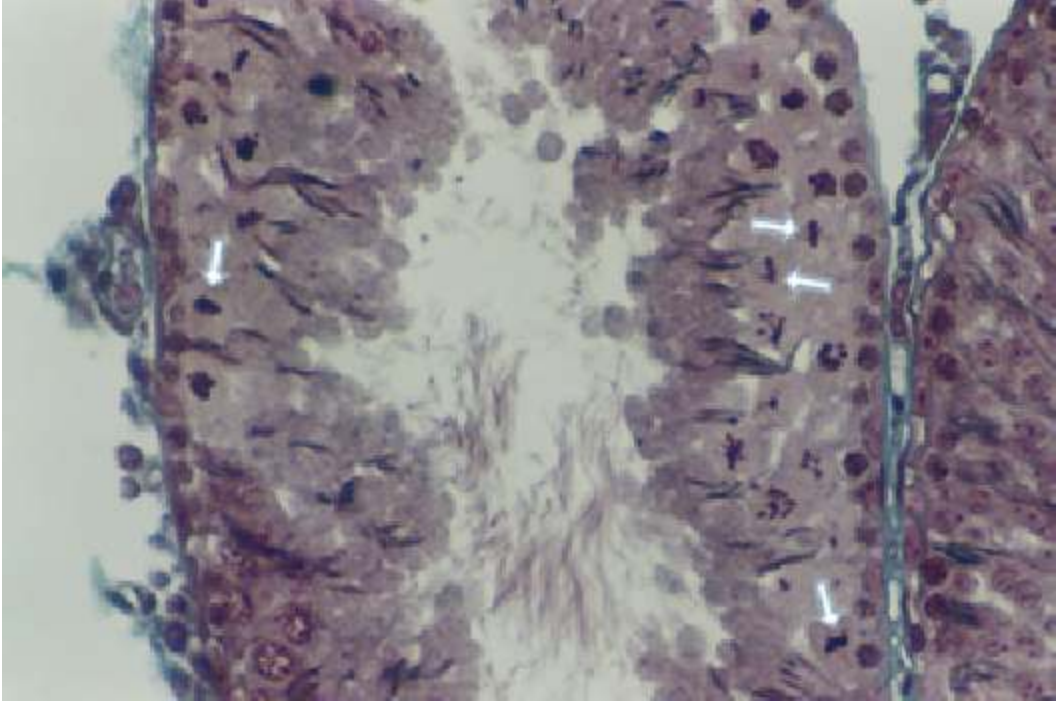
Şekil 30. Oniki saat torsiyonun ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Germ hücrelerinin aralarında ayrılmaların olduğu (★) seminifer tübüller. Masson Trikrom X 10.



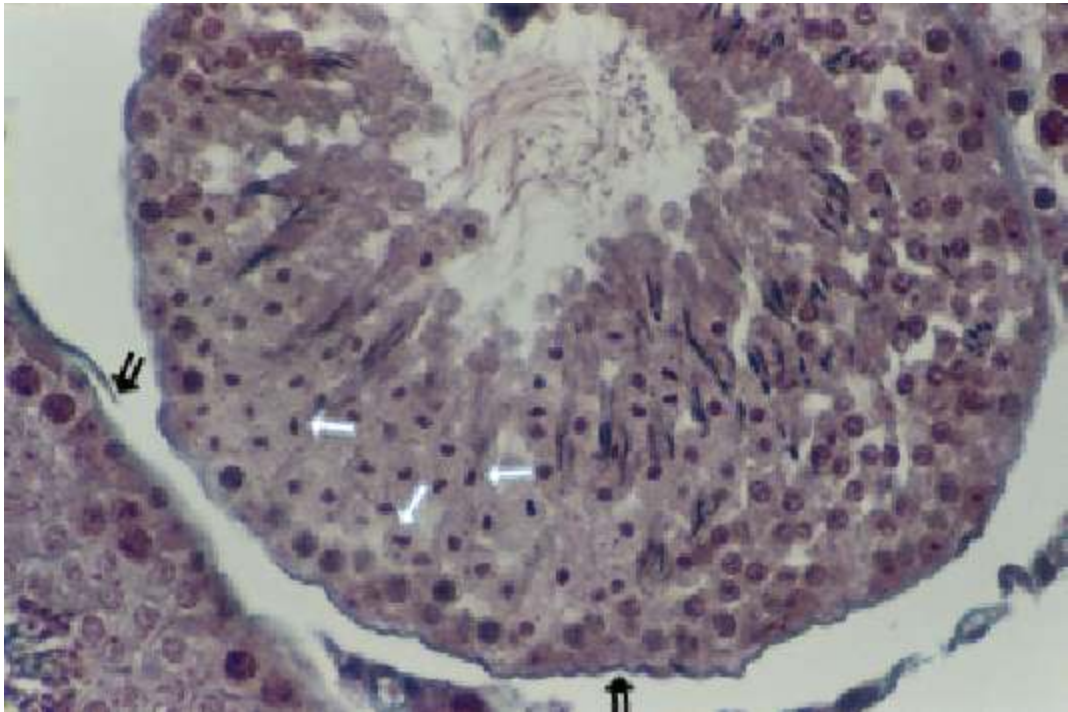
Şekil 31. Oniki saat torsiyonun ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Lümeneye dökülmüş germ hücreleri (⬆) izlenmekte. Masson Trikrom X 20.



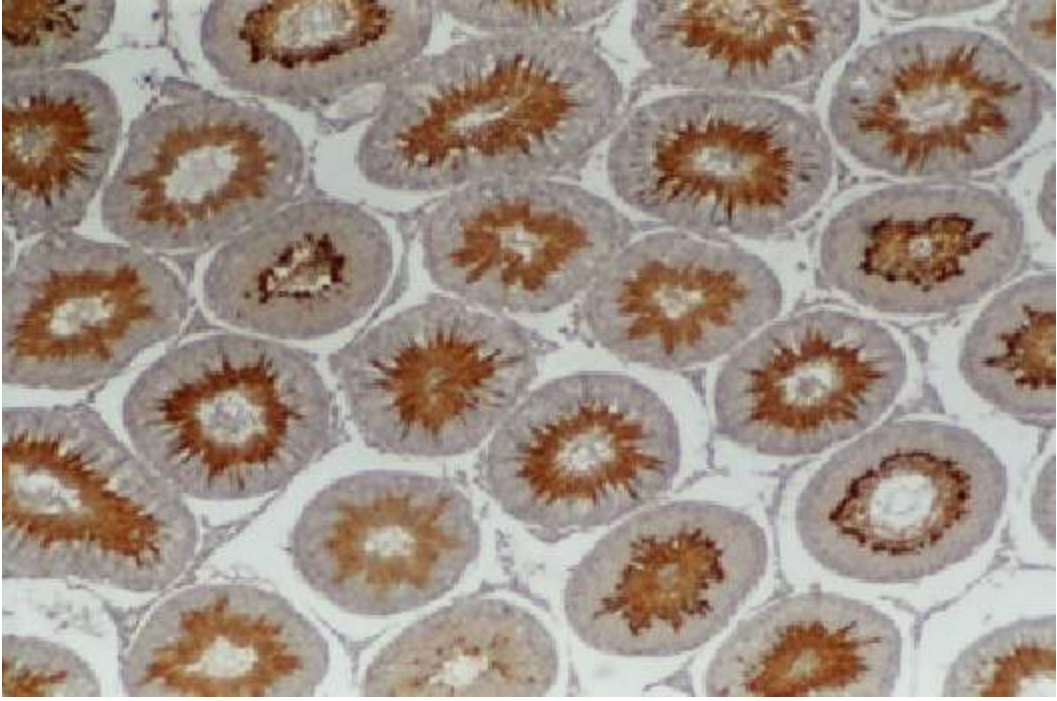
Şekil 32. Oniki saat torsiyonun ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Seminifer tübüllerde organizasyon bozukluğu ve heterokromatik çekirdekli germ hücreleri (⬆) ayırt edilmekte. Masson Trikrom X 40.



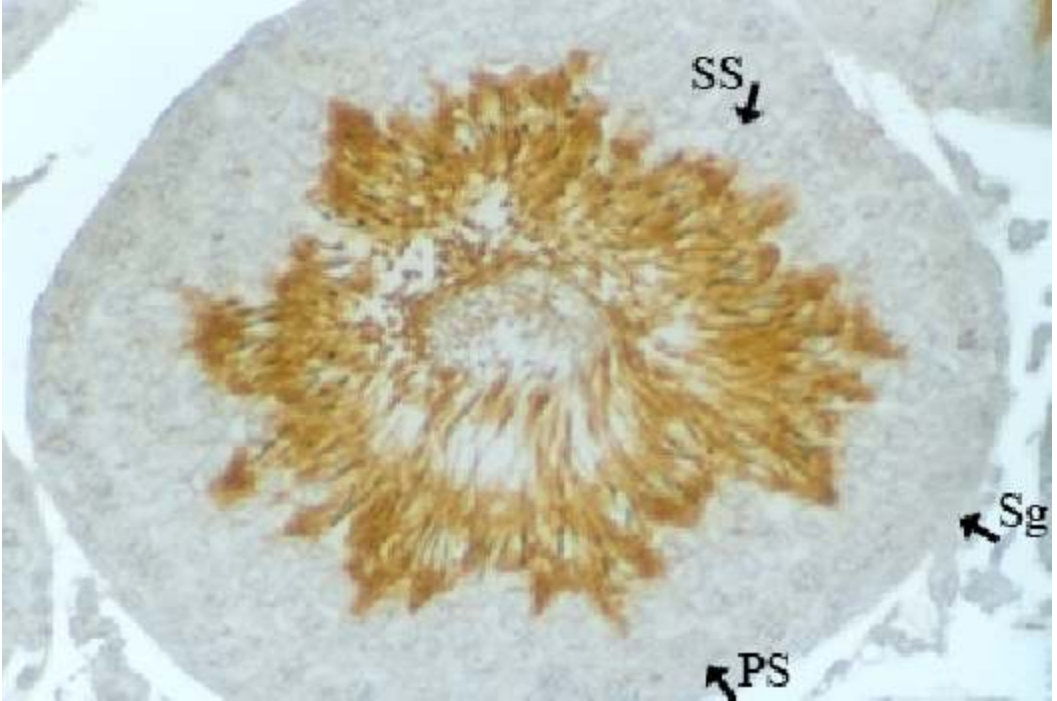
Şekil 33. Oniki saat torsiyonun ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Metafaz arresti (⬆) gözlenen seminifer tübül. Masson Trikrom X 20.



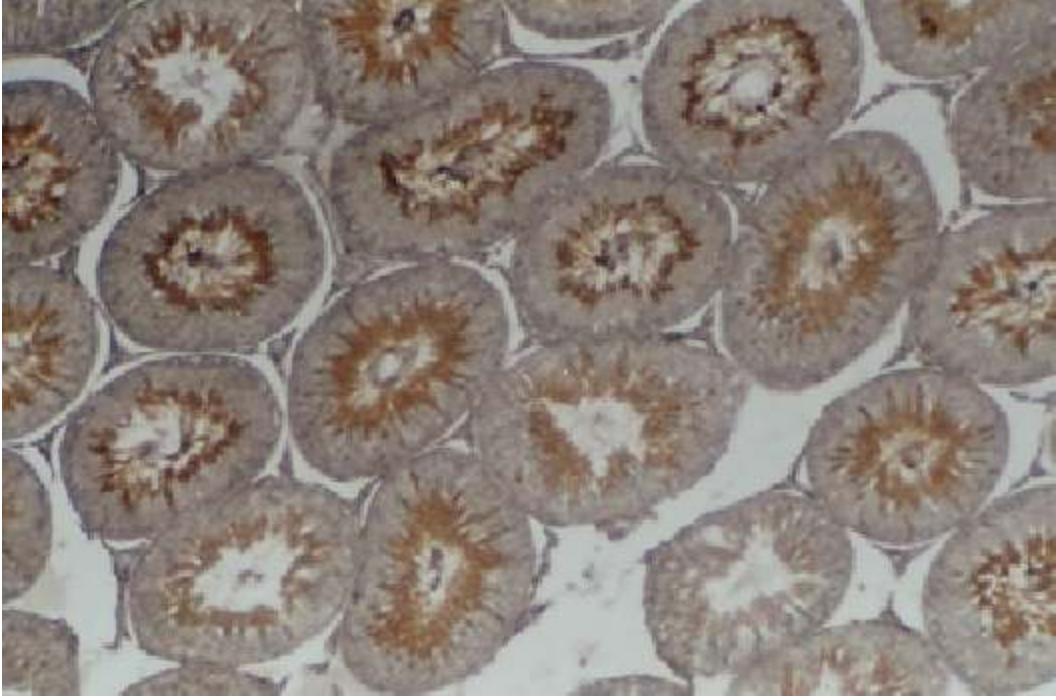
Şekil 34. Oniki saat torsiyonun ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Seminifer tübül bazal membranında bozulmalar (çift ok) ile metafaz arresti gözlenen çok sayıda spermatosit (⬆) izlenmekte. Masson Trikrom X 20.



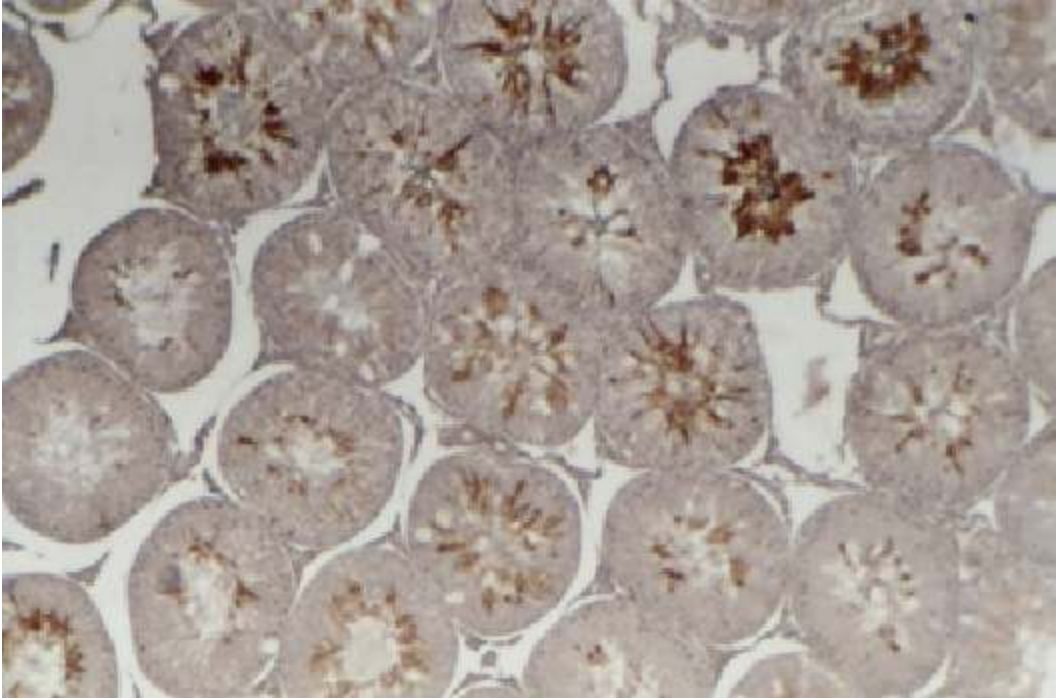
Şekil 35. Kontrol grubu. tACE immünpozitif seminifer tübüller . X 4



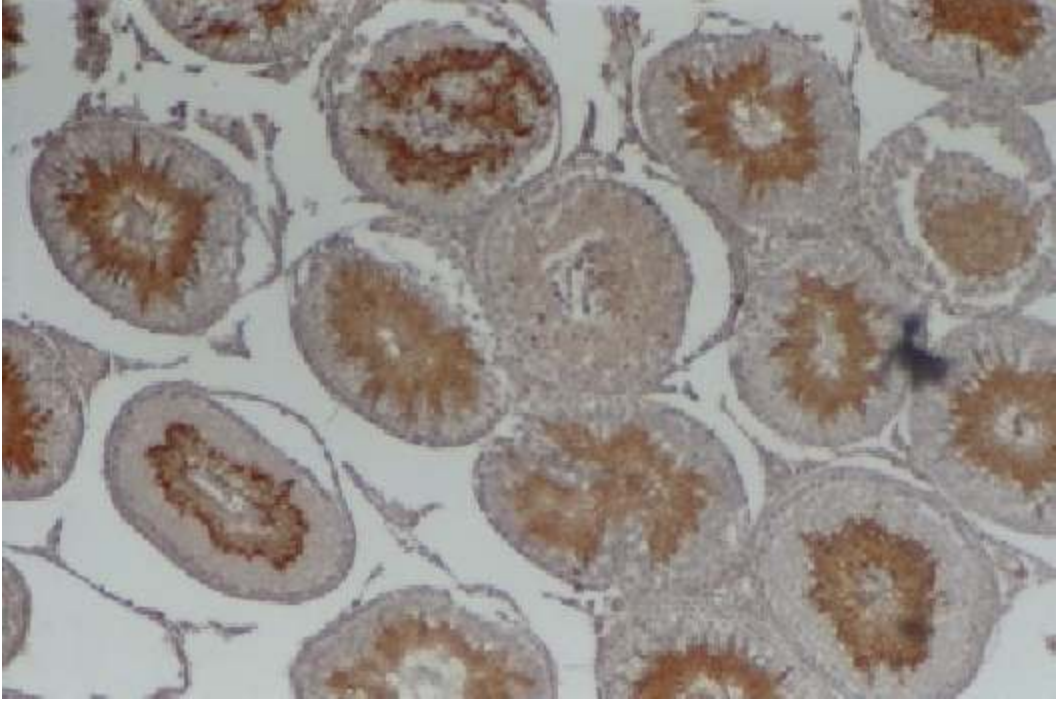
Şekil 36. Kontrol grubu. tACE immünpozitif bir seminifer tübül izlenmekte. Spermatogonyumlar (Sg), Primer spermatosit (PS) ve sekonder spermatositlerde (SS) immünreaktivite gözlenmemekte. X 20.



Şekil 37. Sham grubu. tACE immünpozitif seminifer tübüller. İmmünpozitif hücrelerin spermatidler ve spermatozoalar olduğu ayırt edilmekte. X 4.



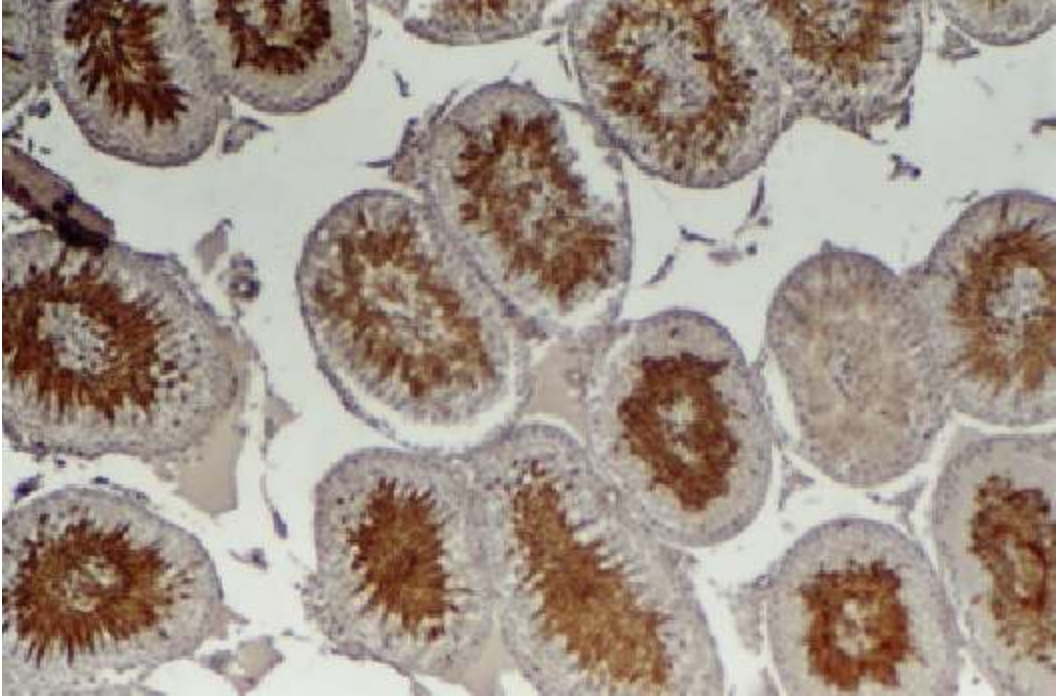
Şekil 38. Altı saat torsiyon uygulanan grup. Kontrol ve deney gruplarına göre en az immünreaktivite şiddeti gözlenen seminifer tübüller. X 4.



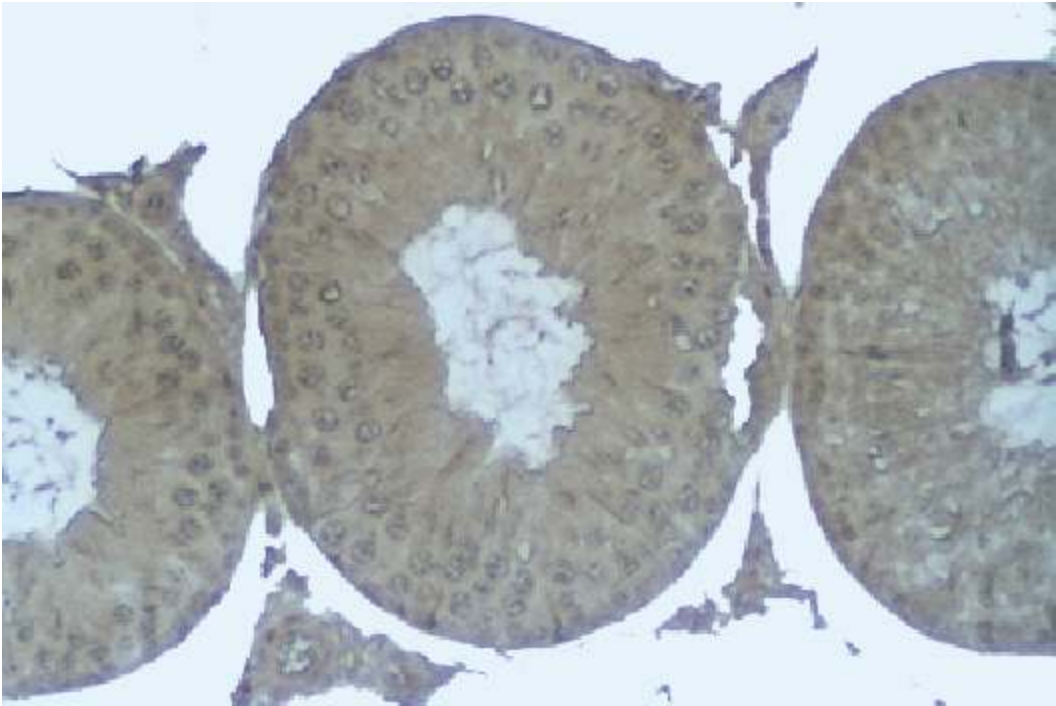
Şekil 39. Altı saat torsiyon ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. tACE immünpozitif seminifer tübüller. X 4.



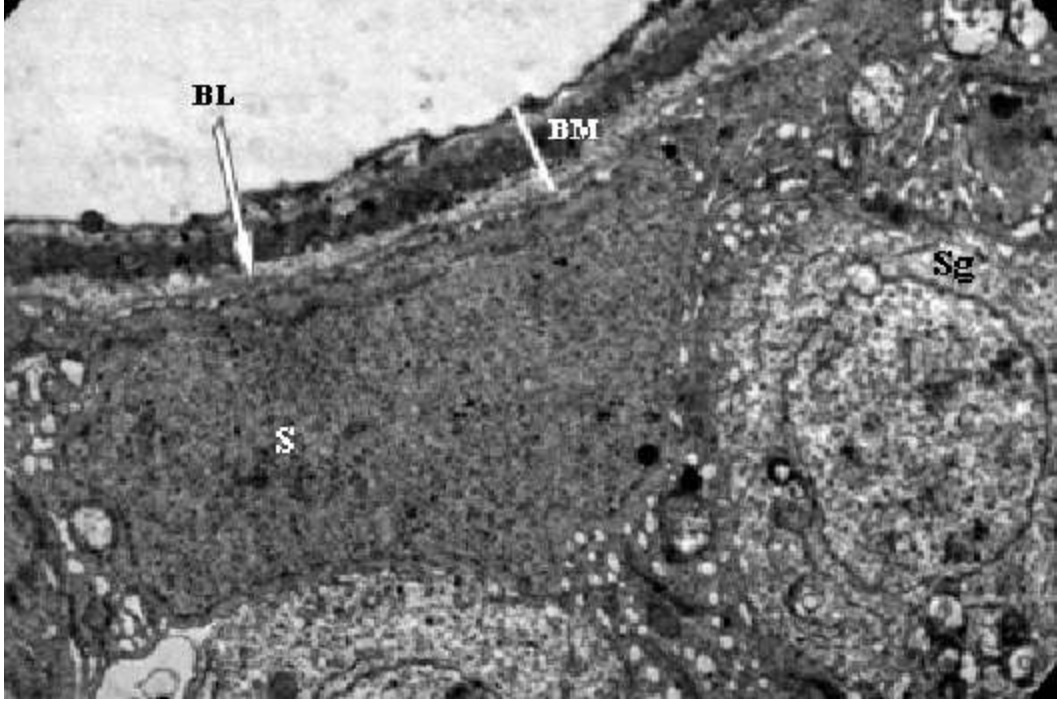
Şekil 40. Oniki saat torsiyon uygulanan grup. tACE immünpozitif seminifer tübüller. X 4.



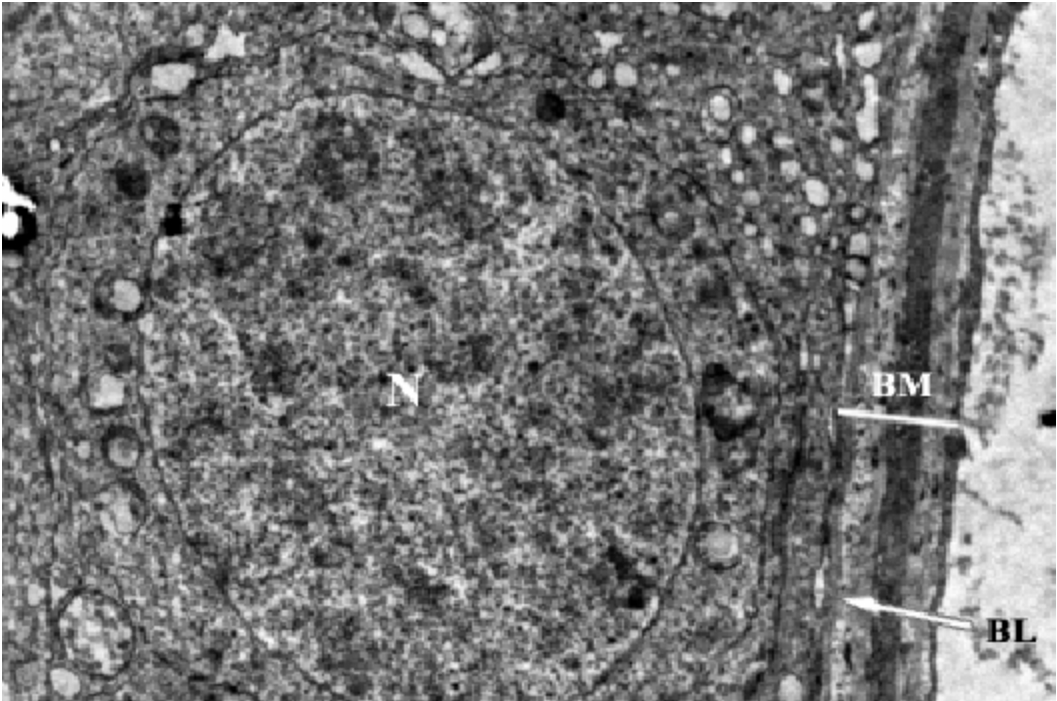
Şekil 41. Oniki saat torsiyonun ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. tACE immünpozitif seminifer tübüller. X 4.



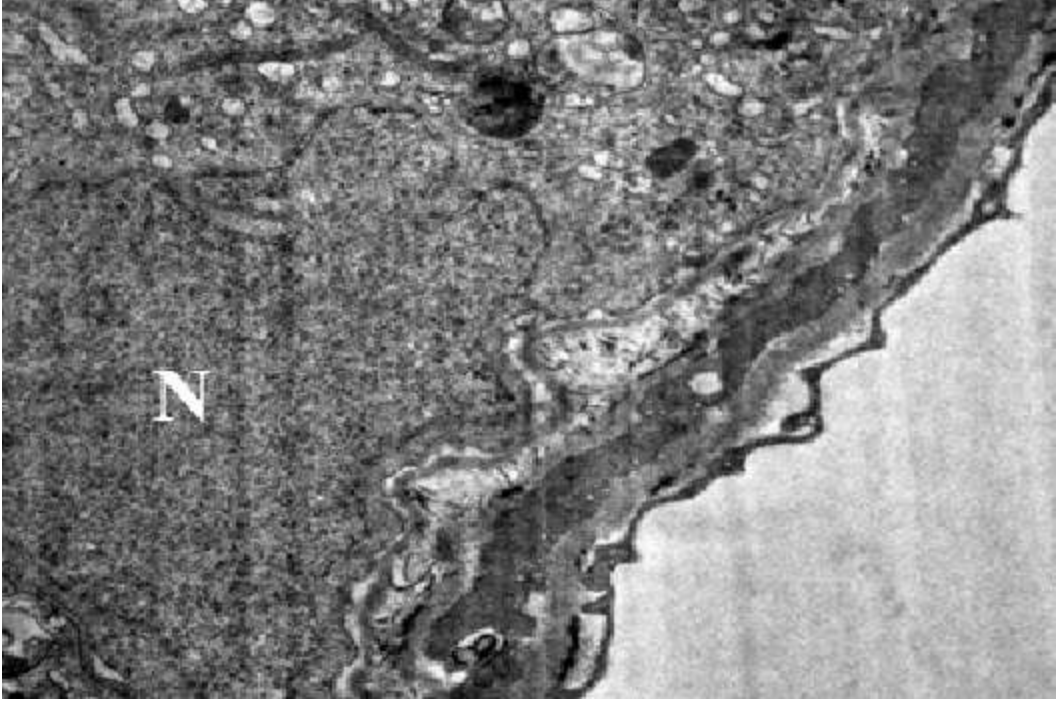
Şekil 42. Negatif kontrol. X 10.



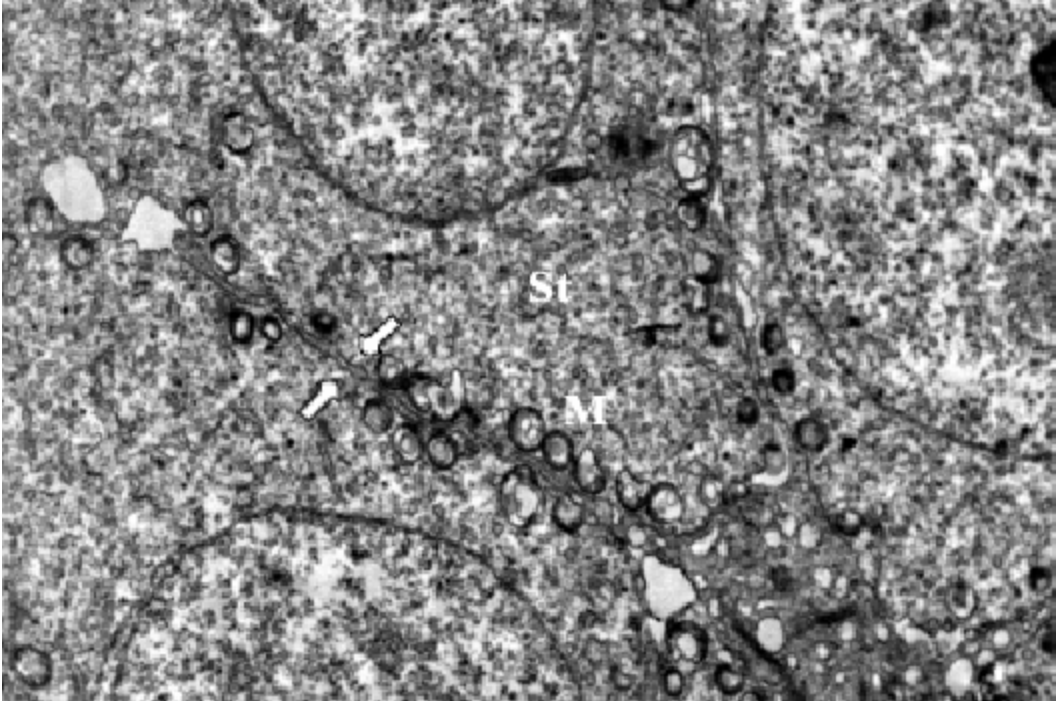
Şekil 43. Kontrol grubu. Normal görünümlü bazal membran. BM: Bazal membran, BL: Bazal lamina, S: Sertoli hücresi, Sg: Tip A spermatogonyum. X 6300.



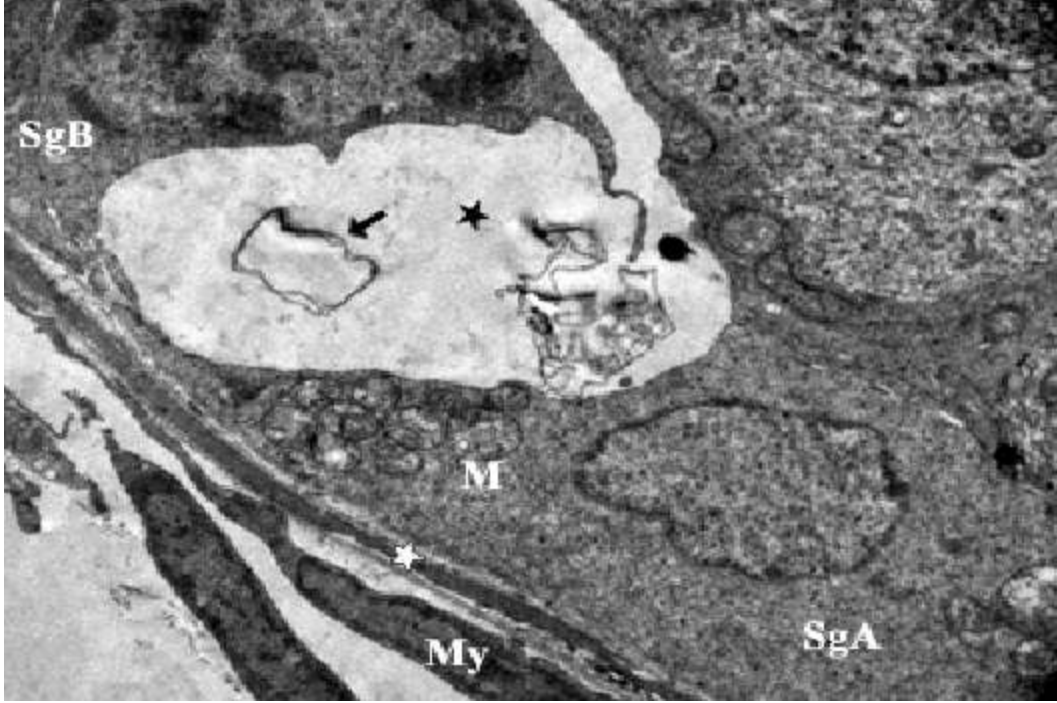
Şekil 44. Kontrol grubu. Normal görünümde bir spermatogonyum. N: Nukleus, BL: Bazal lamina, BM: Bazal membran. X 8000.



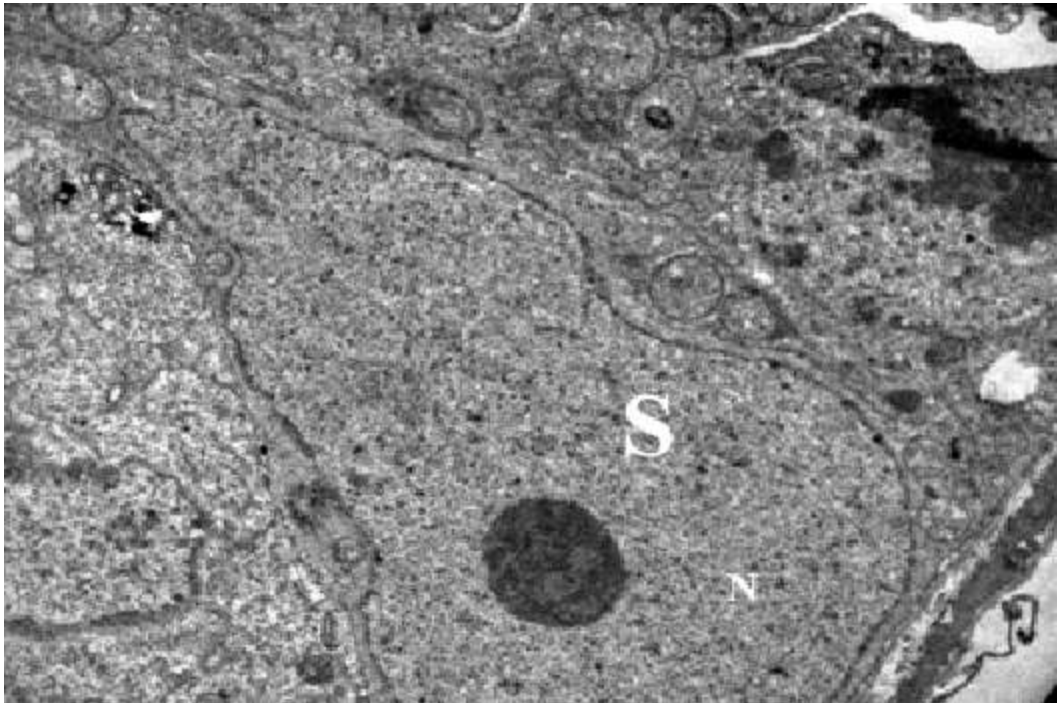
Şekil 45: Sham grubu. Normal görünümde bir Sertoli hücresi ayırt edilmekte. N: Nukleus. X 10000.



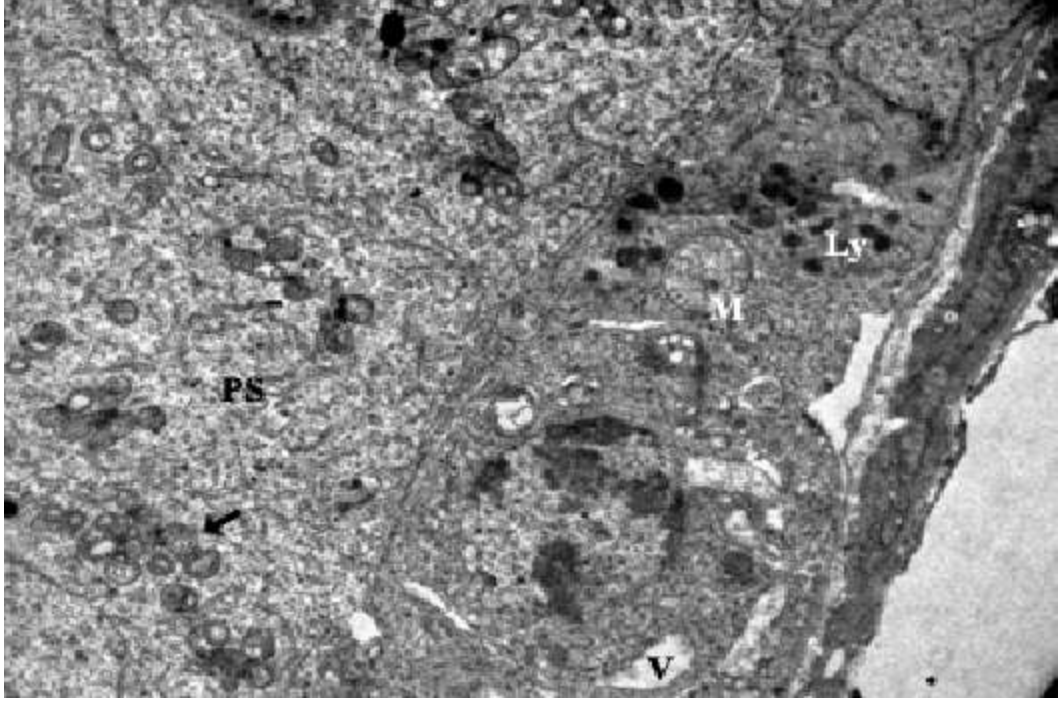
Şekil 46: Kontrol grubu. Hücreler arası bağlantılar normal olarak izlenmekte (↗). St: Boyun bölgesi oluşmaya başlamış spermatid. M: Hücre zarına yakın yerleşmiş, sıralar oluşturan mitokondriler. X 8000.



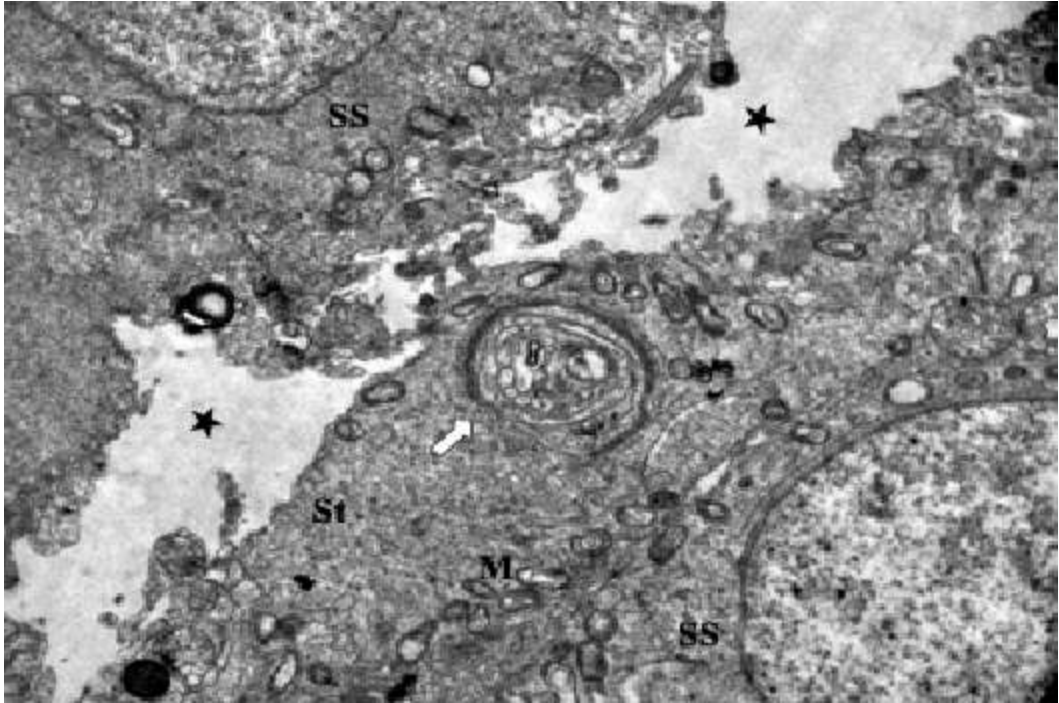
Şekil 47. Altı saat torsiyon uygulanan grup. Bazal membranda incelme (beyaz yıldız), hücreler arasında ayrılma (★) ve bu alanda şekillenmekte olan myelin figürler (▲). My: Peritübüler miyoid hücre, M: Mitokondriler. X 6300.



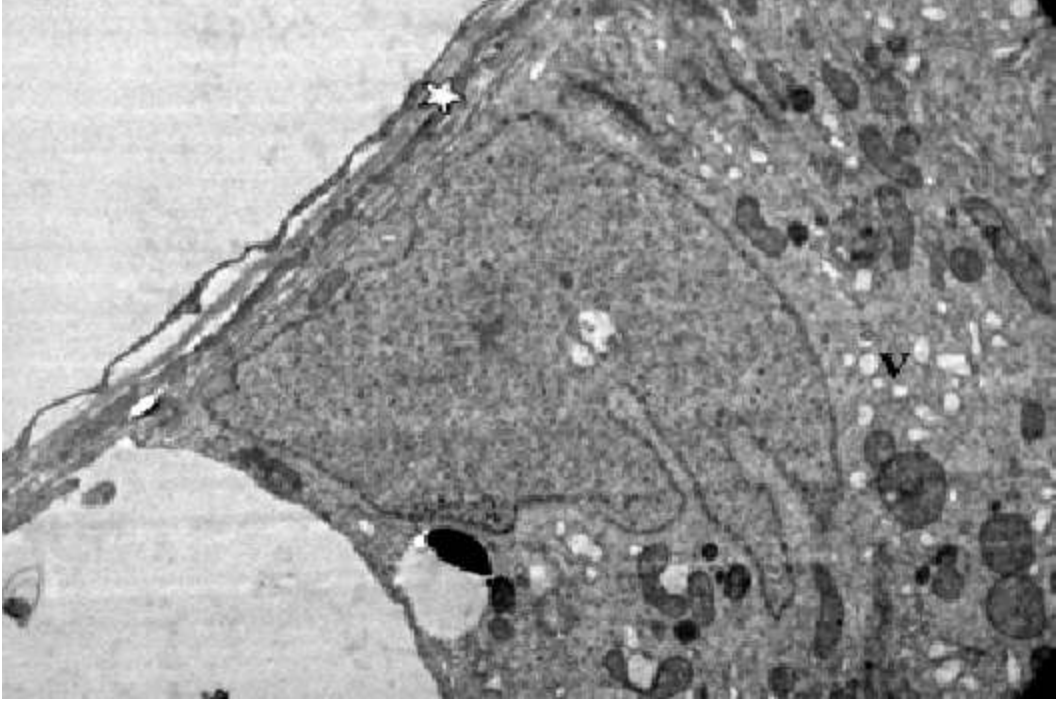
Şekil 48. Altı saat torsiyon uygulanan grup. Normal yapıda bir Sertoli hücresi (S). N: Nukleus. X 6300.



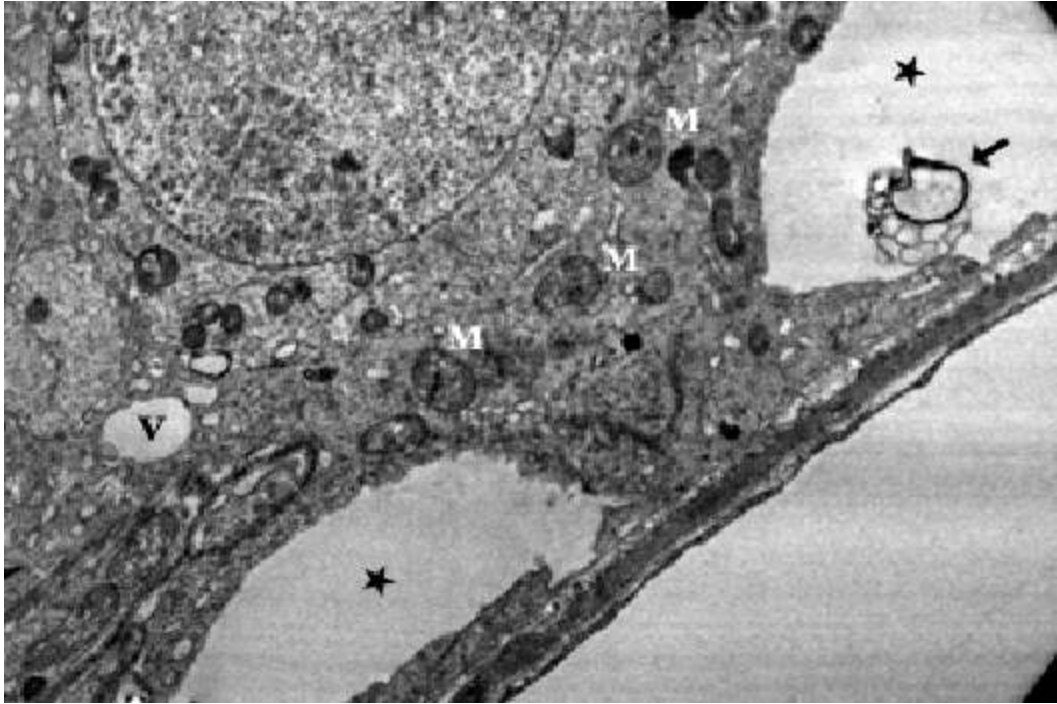
Şekil 49. Altı saat torsiyon uygulanan grup. İntrasitoplazmik vakuoller (V) gözlenen tip B spermatogonyum. Primer spermatosit (PS) içinde dağınık yerleşimli mitokondriler (➤). M: Mitokondri, Ly: Lizozomlar. X 6300.



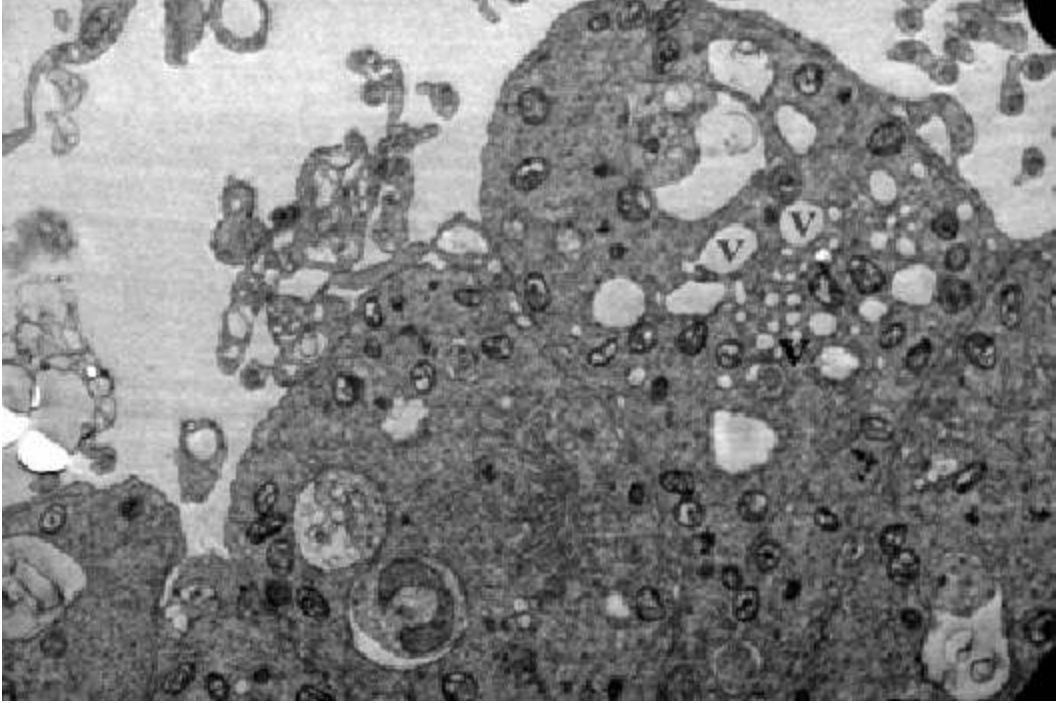
Şekil 50. Altı saat torsiyon uygulanan grup. Germinal epitel hücreleri arasında ayrılımlar (★) ve spermatid (St) sitoplazmasında şekillenmiş myelin figür (➤) izlenmekte. SS: Sekonder spermatosit. M: Periferde yer alan mitokondriler. X 6300.



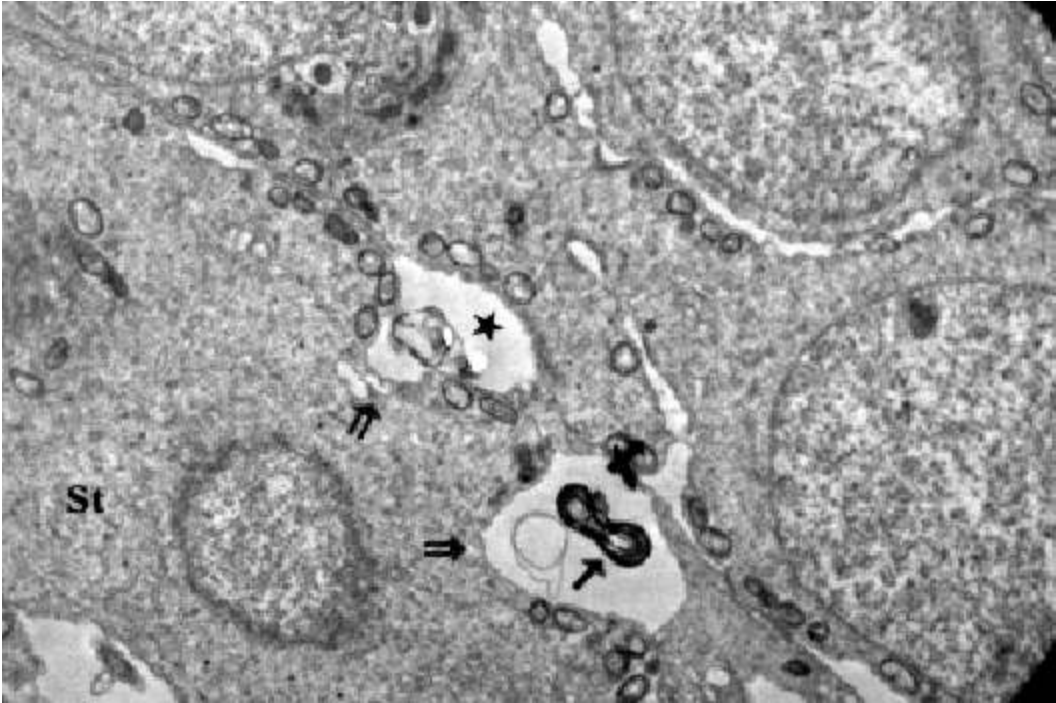
Şekil 51. Altı saat torsiyon ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Bazal membranda incelme (★) ve sitoplazmasında vakuoller (V) gözlenen bir Sertoli hücresi (S) ayırt edilmekte. X 6300.



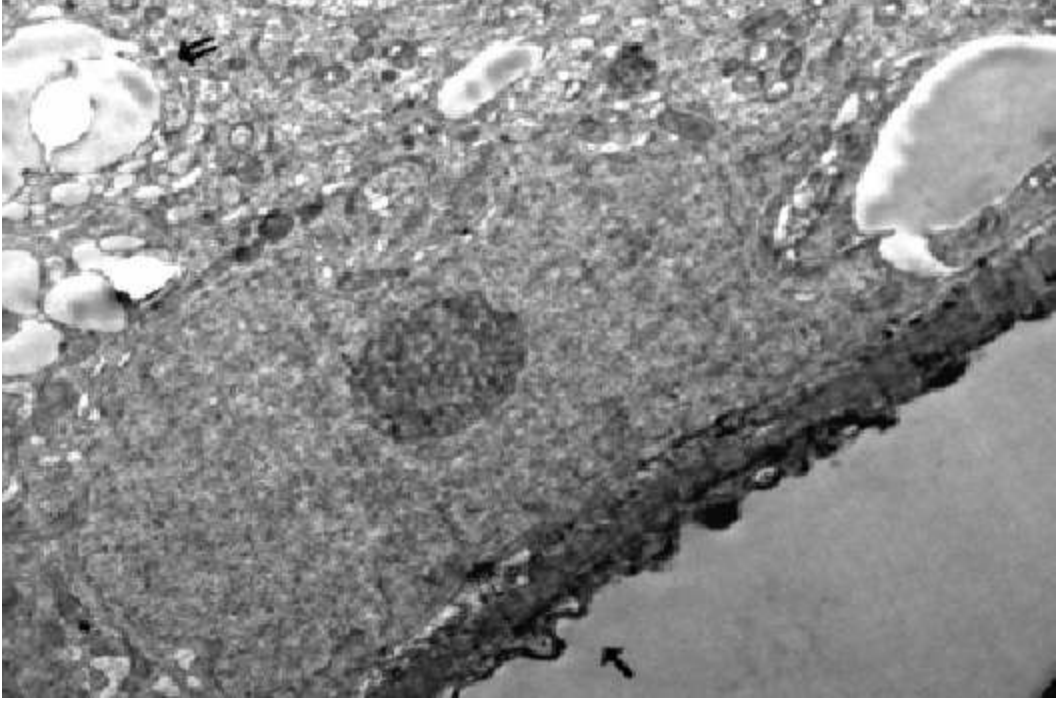
Şekil 52. Altı saat torsiyon ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. İntrasitoplazmik vakuol (V) gözlenen bir spermatogonyum. Spermatogonyumun bazal membrandan ayrıldığı alanda (★) şekillenen bir myelin figür (➤) izlenmekte. M: Mitokondriler. X 6300.



Şekil 53. Altı saat torsiyon ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. İntrasitoplazmik vakuolleri (V) artmış olan sekonder spermatosit izlenmekte. X 6300.



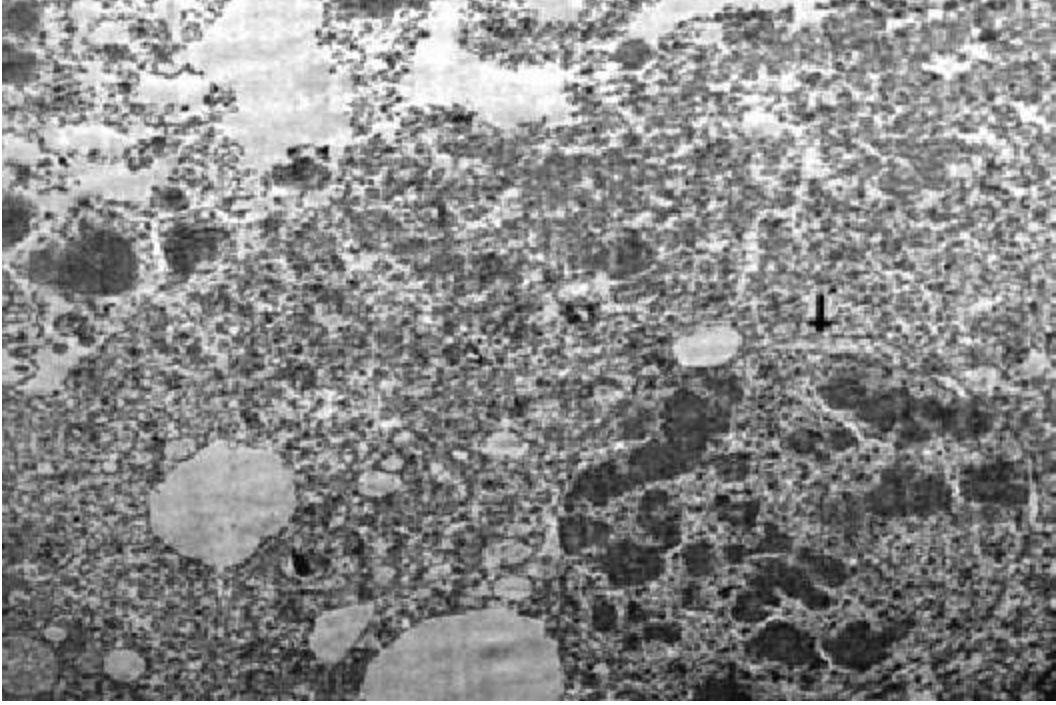
Şekil 54. Altı saat torsiyon ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Hücreler arasında ayrılmalar (★), hücre membranında invajinasyonlar (çift ok) ve ayrılma bölgesinde bir myelin figür izlenmekte (➔). St: Hasarlı spermatid. X 6300.



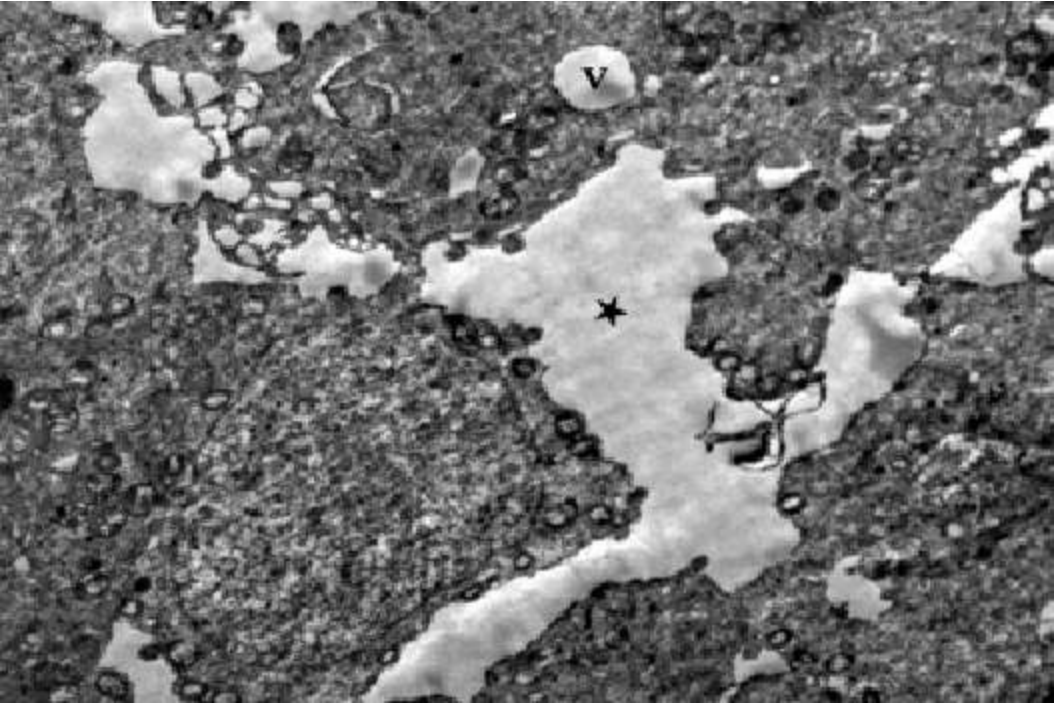
Şekil 55. Oniki saat torsiyon uygulanan grup. Girinti ve çıkıntılarının olduğu bir bazal membran ($\blacktriangledown$) ve dejenere golgi keseleri (çift ok) izlenmekte. X 6300.



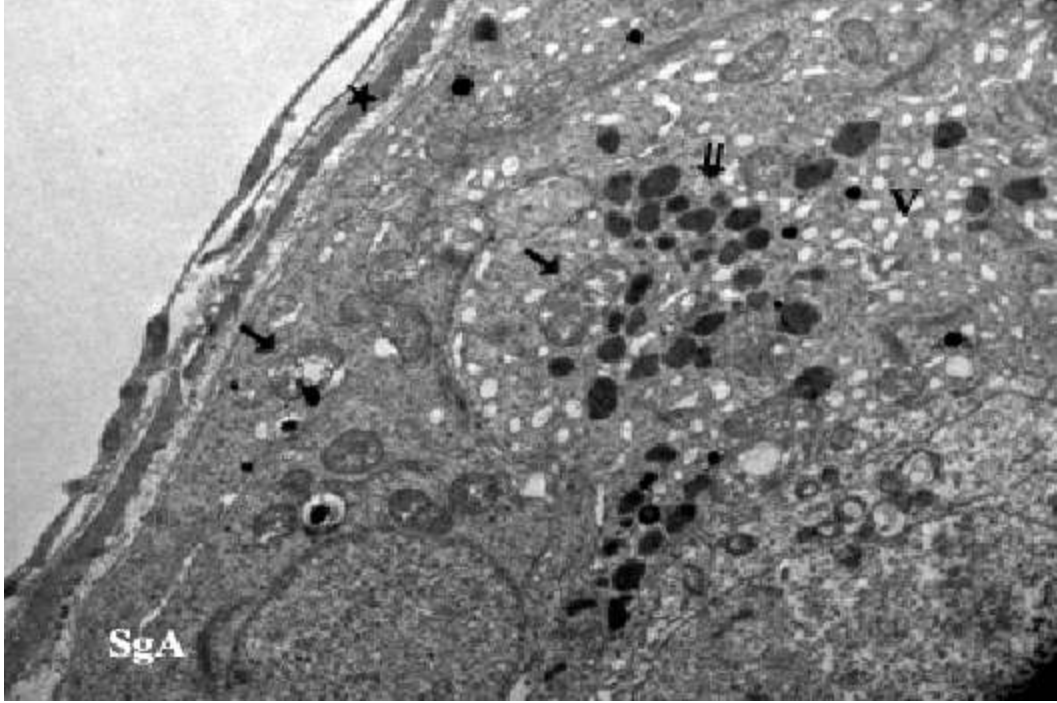
Şekil 56. Oniki saat torsiyon uygulanan grup. İntrasellüler vakuolizasyon (V) ve hücreler arasında ayrılmaların ($\star$) izlendiği germinal epitel hücreleri. X 8000.



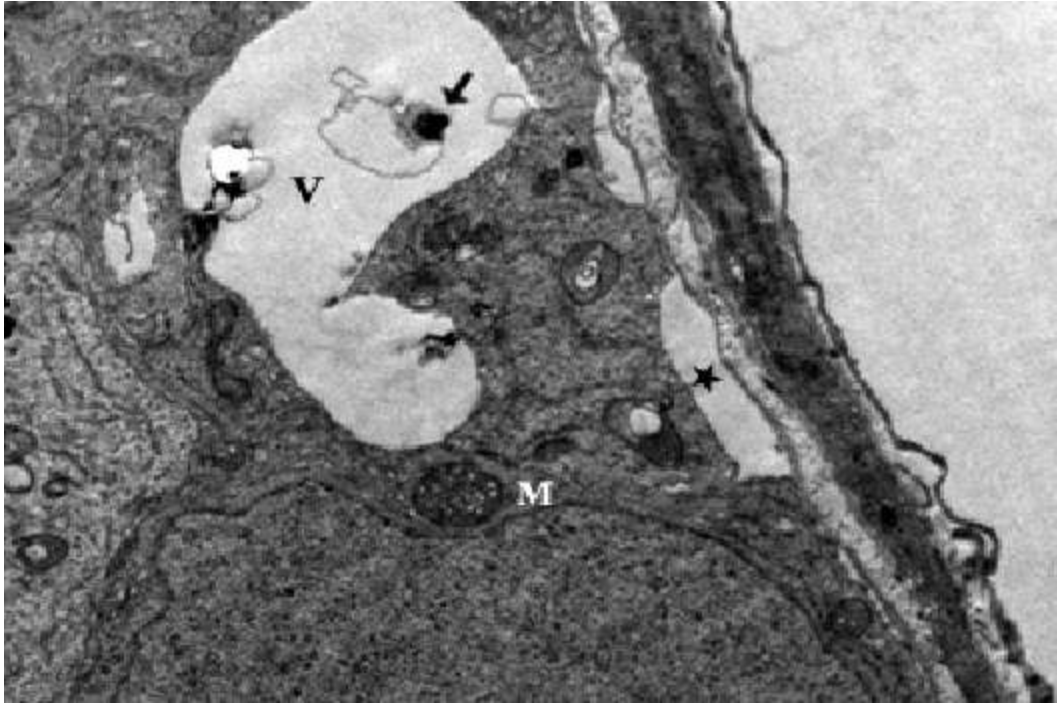
Şekil 57. Oniki saat torsiyon uygulanan grup. Hasarlı hücrede nukleusta kromatinin yoğunlaştığı (↑) izlenmekte. X 6300.



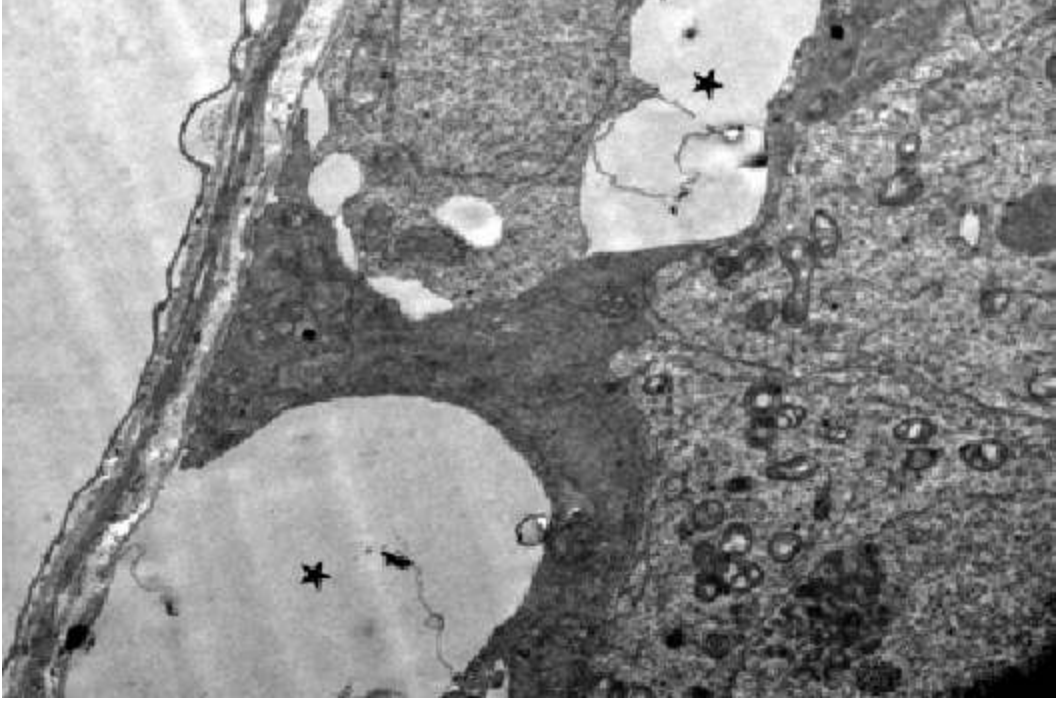
Şekil 58. Oniki saat torsiyon uygulanan grup. Germinal epitel hücreleri arasında bağlantı kaybı (★) ve hücre içinde vakuol (V) izlenmekte. X 6300.



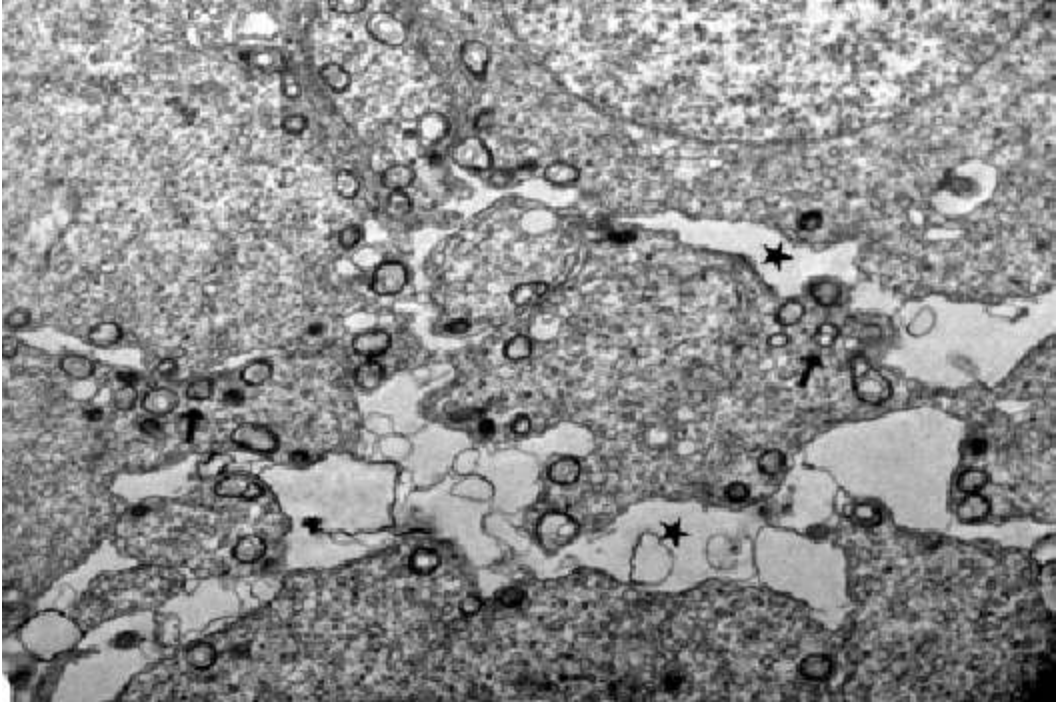
Şekil 59. Oniki saat torsiyonun ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Seminifer tübül bazal membranında incelme (★) gözlenmekte. Mitokondrilerde hasar (⬆), intrasitoplazmik vakuoller (V) ve lizozom artışı (çift ok) gözlenen bir primer spermatosit izlenmekte. SgA: Tip A spermatogonyum. X 6300.



Şekil 60. Oniki saat torsiyonun ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Bazal membrandan ayrıldığı gözlenen (★) spermatogonyumda intrasitoplazmik vakuol ve myelin figür (⬆) izlenmekte. X 8000.



Şekil 61. Oniki saat torsiyonun ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Bazal membran üzerinde ve hücreler arasında gözlenen ayrılma alanları (★). X 6300.



Şekil 62. Oniki saat torsiyonun ardından 24 saat detorsiyon uygulanan grup. Sekonder spermatositler arasında ayrılmalar (★) izlenmekte. Periferik yerleşimli mitokondriler (↗). X 6300.

6. TARTIŞMA

Testis torsiyonu özellikle yeni doğanlarda ya da ergenlik dönemindeki erkek çocuklarda görülen tıbbi bir acil ve morbidite kaynağıdır (22, 61). Testisin ve spermatik kordun torsiyonu testiste kan akımında azalmaya ya da tıkanmaya neden olur ve germ hücre kaybı, aspermatogenez ve testiküler atrofiyi de içeren iskemik hasarlarla sonuçlanabilir (141, 143). Torsiyonla indüklenmiş testiküler iskemi sıklıkla detorsiyon ya da orşiektomi gibi cerrahi müdahaleleri gerektirebilir (30). Fakat acil müdahale ile orşiektomi yapılırsa, ya da testis detorsiyonunda dahi infertilite önemli bir sekel olarak kalır (60). Bunun nedeni unilateral testis torsiyonunun kontralateral testiküler hasara neden olmasıdır. Klinik ve deneysel çalışmalar torsiyon sonrası spermatogenezde defektlerin olduğunu gösterse de testiküler hasarın patogenezi net olarak açıklanamamıştır (86).

Hasarlı böbreğin stresini karşı böbreğe yansıttığı, bu böbreğin de kan akımındaki azalma sonucu anürik hale geldiği bilinmektedir. Testiküler ve renal kan damarlarının yakın embriyolojik ilişkisinden dolayı, kontralateral testiküler hasarın oluşmasında kan akımında meydana gelen değişikliklerin rol oynuyor olabileceği varsayılabilir (86).

Karagüzel ve ark. otoimmün mekanizmayı araştırmak için yaptıkları çalışmalarında unilateral spermatik kord torsiyonu öncesi spermatogenik materyali uzaklaştırmak için orşiektomi yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda kontralateral testis kan akışındaki azalmanın düşük fertilitayla bağlantılı olduğunu, kontralateral testiküler hasarın otoimmün mekanizmayla değil de kan akışındaki değişiklikler nedeniyle olabileceğini önermişlerdir (65).

Lievano ve ark. yaptıkları çalışmada 720°, 8 saat torsiyon sırasında ipsilateral testis kan akışında orta derecede azalma, detorsiyondan sonra ise her iki testiste de kan akımında anlamlı derecede artma bulmuşlardır (86). Kan akımındaki azalma hipoksiye, bu da dokularda laktik asit, hipoksantin ve lipid peroksitlerin artmasına neden olur. Lipid peroksidasyonundan sonra kan akışındaki artış serbest radikalleri üretir ki bu da dokularda reperfüzyon hasarı olarak bilinen önemli hasarlara neden olur (2).

Karşı testiste meydana gelen hasar torsiyonun derecesine ve süresine bağlı olarak çeşitli düzeylerde olabilir. Sıçan modellerindeki testiküler torsiyon çalışmalarında, testisin 1 saatliğine 720° torsiyonu ile, Leydig ve Sertoli hücrelerinin normal fonksiyon görmesine rağmen, spermatogenezin kayıpla sonuçlandığı gösterilmiştir (7, 142). Cosentino ve ark. (20) ile Anderson ve ark. (4) ise yaptıkları çalışmalarda testis torsiyonunun 4-6 saat içinde tedavi edilmediği takdirde spermatogenik kayıp meydana geldiğini bildirmişlerdir (101).

Kontralateral testiküler hasarın oluşması için gereken kritik süre 6-8 saattir. Sarıca ve ark. 2 saat torsiyon sonunda kontralateral testiste belirgin bir iskemi oluşmadığını, ancak kontralateral testiste iskemik hasarı 6 saatlik unilateral torsiyondan sonra gözlediklerini bildirmişlerdir (117).

Testis torsiyonunun kısa ve uzun sürede karşı testiste meydana getirdiği dejenerasyonları ışık ve elektron mikroskopik düzeyde inceleyen çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda testis torsiyonunun derecesine ve süresine göre farklı histolojik bulgular elde edilmiştir (13, 17, 120, 144).

Biz de çalışmamızda, 6 ve 12 saatlik tek taraflı torsiyon ve ardından 24 saat detorsiyon uygulanmış sıçanlarda karşı testiste oluşan hasarları ışık ve elektron mikroskopik düzeyde incelemeyi amaçladık.

Literatürde tek taraflı testis torsiyonuyla karşı testiste hasar oluşmadığını iddia eden çalışmalar da mevcuttur (138, 139). Bu karşıt görüşlere rağmen, çalışmamızda literatürdeki diğer çalışmalarla uyumlu olarak testis torsiyonu sonrasında ve detorsiyon ile karşı testiste hasar oluştuğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda 6 saat torsiyona maruz kalmış sıçanların karşı testislerinde dejenere olmuş seminifer tübülleri, germ hücreleri arasında ayrılmaları ve germ hücrelerinin gruplar halinde lümene döküldüğünü tespit ettik. Uğuralp ve ark. 720°, 4 saat torsiyon uyguladıkları çalışmalarında, karşı testiste yalnızca ödem, Blank ve ark. ise 6 saat 720° torsiyon sonunda karşı testiste sadece peritübüler hemoraji tespit etmişlerdir (13, 144). Kontralateral testiküler hasarı indüklemek için kritik torsiyon süresi 6-8 saat arasındadır (27). Bulgulardaki bu farklılık Uğuralp ve ark.'nın uyguladıkları torsiyon süresinin daha kısa olmasından ya da Blank ve ark.'nın prepubertal sıçanlar kullanmış olmalarından dolayı olabilir.

Altı saat torsiyonu takiben 24 saat detorsiyon uyguladığımız sıçanlarda karşı testislerde germ hücreleri arasında ayrılmalar izlenmekteydi. 12 saat torsiyon grubunda ise birbirlerinden ayrılmış germ hücrelerinin gruplar halinde lümene döküldüğü izlendi. Oniki saat torsiyondan sonra 24 saat detorsiyon yaptığımız grupta karşı testislerde germ hücreleri arasında ayrılmalar diğer gruplara oranla daha fazlaydı. Blank ve ark. da 6 saat 720° torsiyon üzerine 24 saat detorsiyon uyguladıkları çalışmalarında germinal hücrelerde düzensizlik ve dökülme tespit etmişlerdir (13). Janetschek ve ark. ise 6 ve 12 saat 540° torsiyon uygulayıp

detorsiyondan 8 hafta sonra inceledikleri karşı testislerde germinal epitelde anlamlı değişiklikler bulmamışlardır (58). Bunun nedeni uyguladıkları torsiyon derecesinin düşük olması olabilir.

Vakuolizasyon çok sayıda germ hücrelerinin dökülmesi ile seminifer epitelde ortaya çıkan bir hasardır. Chakraborty ve ark. da 540° , 8-12 saat torsiyon uygulayıp detorsiyondan 16 ay sonra inceledikleri karşı testislerde çok sayıda vakuollere rastlamışlardır (17). Bizim çalışmamızda da 6 saat torsiyon uygulanmış grupta karşı testiste vakuoller izlendi. Bu iki çalışma arasındaki farklılık bizim çalışmamızın akut dönem bulgularını, Chakraborty ve ark.'nın çalışmasının ise geç dönem bulgularını yansıtmaktadır.

Gökçe ve ark. 720° , 4 saat torsiyon uygulayıp detorsiyondan 24 saat sonra inceledikleri karşı testislerde apopitotik hücrelerin anlamlı derecede artmış olduğunu bulmuşlardır (45). Blank ve Chakraborty çalışmalarında karşı testiste çok sayıda piknotik çekirdekli ya da nekrotik germ hücreleri tespit etmişlerdir (13, 17). Bizim de çoğu deney grubumuzda piknotik çekirdekli ya da heterokromatik çekirdekli dejenere germ hücreleri mevcuttur, bu açıdan bulgularımız literatürle uyumludur.

Spermatozitler, testisi olumsuz etkileyen durumlarda sıklıkla ikinci mayoz bölünmenin metafaz evresinde dejenere olurlar. Işık mikroskopunda iğ şeklindeki iplikler metafaz evresindeki kromozomlar gibi iyi boyanmış görünürler (114). Biz de 12 saat torsiyon ve sonrasında 24 saat detorsiyon uyguladığımız grupların karşı testislerinde metafaz arrestine rastladık. Savaş ve ark. da 720° , 1 ay torsiyon uyguladıkları çalışmalarında karşı testiste azalmış spermatogenezin belirteci olarak diffüz matürasyon arresti gözlemişlerdir (119).

Testiküler torsiyon ve detorsiyonun uzun dönem etkilerini araştıran çalışmalar, 3-6 saat süren 360°-720°'lik torsiyondan haftalar sonra yaygın doku hasarı oluştuğunu göstermişlerdir (58, 59). Testisin torsiyona akut cevabını araştıran diğer çalışmalar ise 1-3 saatlik kısa süreli bir iskemiden sonra bile ultrastrüktürel hasarı tanımlamışlardır (20, 66).

Yaptığımız çalışmada tüm deney gruplarında elektron mikroskopik düzeyde bazal membranda dejenerasyon ve incelmeler tespit ettik. Bu açıdan bulgularımız Savaş ve ark.'nın 720°, 24 saat torsiyon uyguladıkları çalışmalarının sonuçlarından farklıdır. Savaş ve ark. karşı testis bazal laminasının devamlılığını koruduğunu fakat kalınlaşıp katlantılı hale geldiğini bulmuşlar ve bunu da artmış kollagen sentezine bağlamışlardır (120). İki çalışma arasındaki farklılık torsiyon sürelerinin farklı olmasına bağlı olabilir.

Yine çalışmamızda hemen hemen tüm deney gruplarında germinal hücreler arasında bağlantı kaybı mevcuttu. Savaş ve ark. da 24 saat torsiyon sonunda karşı testiste hücresel bağlantılarda ayrılmalar izlemişlerdir (120). Bu açıdan bulgularımız literatürle uyumludur.

Strese karşı organizmanın ilk verdiği yanıt hücre şişmesidir (76, 156). Burada anormal sıvı birikimi sonucunda ışık mikroskopik düzeyde hücresel vakuolizasyonlar ortaya çıkar (156). Yaptığımız çalışmada tüm deney gruplarında intrasitoplazmik vakuolizasyona rastladık.

Literatürde testis torsiyonu/detorsiyonu ile ilgili çalışmalarda değişen torsiyon ve detorsiyon süreleri ile torsiyon dereceleri, çalışmalar arasında sağlıklı karşılaştırma yapılabilmesini güçleştirmektedir. Buna rağmen çalışmamızda elde

edilen ışık ve elektron mikroskopik bulgular ile literatürle uyumlu testis hasarı oluşturabildiğimizi söyleyebiliriz.

RAS, aslen kan basıncını vasopressör etkisiyle direkt olarak, basınç, elektrolit ve sıvı homeostazını birleştiren bir grup merkezi ve periferik mekanizmayla da indirekt olarak düzenleyen kan kökenli bir hormon sistemidir (24, 109, 133). Bununla birlikte RAS'ın etkileri kardiyovasküler sistemin ötesinde pankreas ile dişi ve erkek üreme sisteminin çeşitli komponentleri gibi farklı hedeflere uzanmıştır (105, 130, 150). Bu dokulardaki anjiyotensin, lokal RAS aktivitesinde parakrin/otokrin kaynaklıdır. Erkek üreme dokularındaki RAS komponentlerinden, testiküler renin, ACE, anjiyotensinojen ve anjiyotensin reseptörleri pubertenin başlangıcıyla ya da hemen öncesinde, plazma gonadotropinleriyle eş zamanlı olarak artarlar (14, 25, 104).

ACE, çeşitli oligopeptidlerden di- ve tripeptidleri hidrolize eden, çinko içeren bir ektopeptidazdır. Somatik izoformu olan sACE, erkek genital yolu dışındaki dokularda geniş bir substrat özgüllüğüne sahiptir ve fizyolojik olarak anjiyotensinleri, kininleri, çeşitli nöropeptidleri ve kök hücre regülatörü olan AcSDKP'yi hidrolize eder (19, 34, 126). Daha kısa bir izoform olan tACE ise yalnızca spermatogenez boyunca germ hücrelerinde bulunur (113).

Spermatogenez boyunca germ hücreleri olgun spermatozoa haline gelebilmek için bir dizi gelişimsel fazdan geçerler. Bu kompleks farklılaşma süreci bu hücrelerin kendilerine özgü biyokimyasının sonucudur (152). Bunlara bir örnek de ACE' in üretilmesidir (127).

Majör tACE aktivitesi primer olarak spermatidlerden, rezidüel cisimlerden, epididimal spermatozoa ve sitoplazmik damlacıklardan eksprese

edilir ve bu nedenle spermatogenik hücrelerin ileri farklılaşma aşamaları için yeni bir belirteç olabilir (145).

tACE'in in vivo rolü birçok spekülasyona konu olmuştur. Epididimiste Ang II'yi salarak epididimal epitel hücrelerinden su ve tuz iletimini indüklediğine dair kanıtlar vardır (153, 154). Bunun epididimal sperm maturasyonu için uygun iyonik ortamın sağlanması için gerekli olduğu varsayılmaktadır. Bir başka görüş ACE'in sperm motilitesini etkiliyor olabileceğidir (11, 145). İn vitro olarak bradikinin ve LHRH'ı da içeren birçok peptid bağını hidrolize edebileceği gösterilmiştir (54). ACE'in spermatogenez boyunca birçok farklı fonksiyonu olabilir.

Knock-out tekniğiyle yapılan son çalışmalar tACE'in erkek fertilitesinde önemli rol oynadığını belirtmektedir (130). Bozulmuş ACE geni taşıyan homozigot erkek fareler, normal testis histolojisi, normal çiftleşme davranışı ve gerilemiş ovidukt transportu ile spermatozoanın zona pellusidaya bağlanması haricinde normal sperm parametreleri göstermelerine rağmen hemen hemen infertildirler (49, 75). Sadece sACE'e sahip olmayan fareler ise normal fertilitite gösterirler (106).

Spermatogenez boyunca tACE'in ortaya çıkma sürecini inceleyen çalışmalar yapılmıştır. Spermatogenez devamlı kök hücre proliferasyonu, mayotik bölünmeler ve spermatidin spermatozoaya farklılaşmasını içeren gelişimsel bir süreçtir (51, 52, 152).

Sibony ve ark. insanların, marmosetlerin ve erişkin erkek sıçanların seminifer tübüllerinde tACE immünreaktivitesini spermatogenez ve

spermiyogenezin en ileri safhalarına denk gelen en içteki katmanda, yuvarlak ve uzamış spermatidlerde ve spermatozoalarda gözlemlenmiştir (123).

Tek taraflı testis torsiyonunun detorsiyonundan sonra spermatogenezde anomaliler meydana geldiği ilk olarak Krarup tarafından bildirilmiştir (74). Testis torsiyonunun fertilitede azalmaya neden olduğu bilinmektedir ve %40-60'dan fazla hastada anormal semen analizleri bildirilmiştir. Genel olarak tek taraflı testis torsiyonunun kontralateral hasarla sonuçlandığına inanılmaktadır (3, 9, 27, 91, 92, 135, 151).

Literatürde değişik patolojik süreçlerde tACE aktivitesini değerlendiren çalışmalar fazla bulunmamaktadır. Yaptığımız çalışmada tek taraflı testis torsiyonu ve detorsiyonunun karşı testis tACE immünreaktivitesinde meydana getirdiği değişiklikleri değerlendirdik. tACE immünpozitif hücreler bizim çalışmamızda da spermatidler ve spermatozoalardı. Spermatogonyumlar, primer ve sekonder spermatositlerde ise tACE immünreaktivitesine rastlanmadı. Gruplar arasında boyanma şiddetindeki farklılığı değerlendirmek için yapılan istatistik sonucunda 6 saatlik torsiyon uygulanan grupta karşı testiste tACE immünreaktivitesinde anlamlı derecede azalma gözlemlendi. Diğer deney gruplarındaki azalma ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildi.

Tartışmada önceden belirtildiği gibi testis torsiyonunda, patogenezi tam olarak anlaşılamasa da karşı testiste de dejeneratif değişiklikler gözlenmektedir. Bu konuda otoimmünizasyon, subklinik kontralateral torsiyon, akrozomal enzim salınımı, torsiyon sırasında ikili nöroendokrin veya vazomotor cevap, altta yatan spermatogenezde defekt ve eşlik eden gonad anomalisi gibi pek çok teori ortaya atılmıştır (8, 62). Özellikle son dönemlerde karşı tarafta oluşan hasarın torsiyon

ile indüklenen ve noradrenalin üzerinden gelişen sempatik deşarja bağılı olduğunu düşündüren bulgular üzerinde durulmaktadır (95, 136).

İnsanlarda tACE spermatozoalar tarafından üretilmektedir ve erkek fertilitesi ile ilişkili olarak fertilizasyon kapasitesini arttırmak için üretilir (63, 122). tACE özellikle spermatogenez sırasında eksprese olur ve ilk önce postmayotik evre 3 spermatidlerde görülür ve ileri farklılaşma ile beraber ekspresyonları spermatozoalarda artar (43, 103). Buradan da anlaşılabacağı üzere tACE aktivitesi spermatogenez ile direkt ilişkilidir.

Testis torsiyon çalışmalarında spermatogenezin olumsuz etkilendiğini kanıtlayan pek çok çalışma bulunmaktadır (7, 10, 58, 88). Esas olarak normal bir testiste düzenli kan akımının sağlanması normal spermatogenez için gerekli en önemli faktördür (118). Tam olarak testiste fonksiyonları açıklığa kavuşturulamamış tACE'in ise özellikle testis torsiyonu gibi patolojik durumlarda nasıl rol aldığını açıklayan çalışmalar bulunmamaktadır. Bu çalışma ile testis torsiyonunda karşı testiste tACE ekspresyonundaki değişikliklerin araştırılması amaçlanmaktadır. Yapılan çalışmada 6 saatlik torsiyon sonrasında karşı testiste tACE aktivitesinde normal testislere göre bir azalma gözlenmektedir. Torsiyon süresi 12 saat olduğunda veya detorsiyon işlemi yapıldığında bu aktivitede kontrole göre anlamlı bir değişiklik dikkati çekmemektedir. Diğer taraftan histolojik olarak bakıldığında torsiyon süresinin artması ile hasarda bir artış olmaktadır. Cosentino ve ark. (21), 0-12 saat arasında yaptıkları değişen torsiyon sürelerinin ardından fertilitayı incelediklerinde fertilitedeki en keskin azalmanın özellikle 5 ile 9. saatler arasındaki torsiyonda olduğunu gözlemişlerdir. Lysiak ve ark. (88), testis iskemisi sırasında germ hücre apoptozundan ilk etkilenenlerin

evre 2-3 germ hücreleri olduğunu ve apoptoz artışının torsiyon onarımından 4 saat sonra başladığını göstermişlerdir. Pauls ve ark.'nın (103) tACE proteininin ilk önce postmayotik 3. evre spermatidlerde gözlemlediklerini bu noktada tekrar hatırlamak gerekmektedir. Janetschek ve ark.'nın (58) çalışmasında ise 6 ve 12 saatlik torsiyon süreleri karşılaştırıldığında, karşı testiste 6 saatlik torsiyonun ardından daha ağır bir endokrin yanıt gözledikleri izlenmektedir. Bu çalışmada bizim çalışmamız ile paralel olarak, histolojik hasarın süre ile artışı olmasına rağmen 12 saatlik torsiyonun ardından sperm sayısındaki azalma kontrol grubuna göre anlamsız bulunmuştur. Savaş ve ark. (118) torsiyon sonrasında karşı testiste malondialdehit (MDA) düzeylerine baktıklarında yine histolojik bulgular olmadan MDA düzeylerinde değişiklikler gözlemlemişlerdir. Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda da tespit ettiğimiz gibi torsiyonun ardından karşı testiste histolojik bulgulardan bağımsız biyokimyasal ve nöroendokrin olaylar gerçekleşmektedir. Torsiyondan 6 saat sonra muhtemelen karşı testiste kan akımında azalmaya bağlı olarak spermatogenezde azalma gerçekleşmektedir. Bu değişiklik yaptığımız çalışmada gördüğümüz gibi tACE ekspresyonunda azalma ile kendini göstermektedir. Detorsiyon ile veya belki de halen torsiyon sırasında, kan akımı tekrar sağlandığında bu aktivite normale dönmektedir.

Çalışmamızda tespit ettiğimiz ilgi çekici bulgulardan bir diğeri 6 saat torsiyonda tACE aktivitesinde azalma olmasına rağmen, torsiyon süresi 12 saate uzadığında bu aktivitenin tekrar artması olmuştur. Baker ve ark. (7) testislerde torsiyon sonrasında halen anlamlı bir steroidojenik rezervin mevcut olduğunu ifade etmektedirler. Yine lazer doppler flovmetri ile yapılan torsiyon çalışmalarında 720° torsiyon ile testis kanlanmasında ani bir azalma, 5 dakika

sonra ise pretorsiyon düzeylerinin %70'ine ulaşan kan akımında geri dönüş izlenmektedir (140). Aynı şekilde karşı tarafta sempatik uyarı ile oluşan vazokonstriksiyon sürekli olmayıp belli bir sürenin ardından kanlanma tekrar eski düzeylerine yaklaşıyor olabilir. Veya karşı testiste kan akımı azalırken yine belli bir sürenin geçilmesi ile beraber aktiflenen steroidojenik rezerv veya kompensatuvar bir mekanizma, spermatogenezi, dolayısıyla tACE aktivitesini tekrar normal düzeylere getirmek için devreye girmiş olabilir. Bu noktaların aydınlatılması için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç olarak tek taraflı testis torsiyonunun ardından karşı testiste histolojik ve nöroendokrin değişiklikler meydana gelmektedir. tACE aktivitesi, özellikle ilk 6 saat içinde karşı testiste kan akımının azalmasına bağlı olabilecek bir azalma göstermektedir. Bu aktivite azalması spermatogenezi yansıtan bir parametre olabilir. Kanlanmanın detorsiyon ile tekrar sağlanmasını takiben tACE aktivitesi tekrar yerine gelmektedir. Karşı testiste, torsiyon süresi 12 saate uzadığında, kanlanmanın tekrar artmasına bağlı olarak veya aktive olan kompensatuvar bir rezervin etkisi ile tACE aktivitesi artmaktadır. Bu konuyu aydınlatacak ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. tACE, testis torsiyonu gibi patolojik süreçlerde rol alan bir enzimdir. Ancak bu enzimin etkileşim mekanizmaları henüz bilinmemektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Aguilera G, Millan MA, Harwood JP. (1989). Angiotensin II receptors in the gonads. *Am J Hypertens* 2: 395-402.
2. Akgür FM, Kiliç K, Aktuğ T. (1993). Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Urol Res* 21: 395-399.
3. Akgür FM, Kiliç K, Tanyel FC, Büyükpamukcu N, Hiçsonmez A. (1994). Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. *Urology* 44: 413-418.
4. Anderson JB, Williamson RC. (1986). The fate of the human testes following unilateral torsion of the spermatic cord. *Br J Urol* 58: 698-704.
5. Arıncı K, Elhan A. (1997). *Anatomi*. Güneş Kitabevi, Ankara. Sayfa 75, 160, 417-422.
6. Bader M, Peters J, Baltatu O, Müller DN, Luft FC, Ganten D. (2001). Tissue renin angiotensin systems: new insights from experimental animal models in hypertension research. *J Mol Med* 79: 76-102.
7. Baker LA, Turner TT. (1995). Leydig cell function after experimental testicular torsion despite loss of spermatogenesis. *J Androl* 16: 12-17.
8. Barkley C, York JP, Badalament RA, Nesbitt JA, Smith JJ, Drago JR. (1993). Testicular torsion and its effect on contralateral testicle. *Urology* 41: 192-194.
9. Bartsch G, Frant S, Marberger H, Mikuz G. (1980). Testicular torsion: late results with special regard to fertility and endocrine function. *J Urol* 124: 375-378.
10. Becker EJ Jr, Turner TT. (1995). Endocrine and exocrine effects of testicular torsion in the prepubertal and adult rat. *J Androl* 16: 342-351.
11. Berg T, Sulner J, Lai CY, Soffer RL. (1986). Immunohistochemical localization of two angiotensin I-converting isoenzymes in the reproductive tract of the male rabbit. *J Histochem Cytochem* 34: 753-760.
12. Bernstein KE, Martin BM, Edwards AS, Bernstein EA. (1989). Mouse angiotensin converting enzyme is a protein composed of two homologous domains. *J Biol Chem* 264: 11945-11951.
13. Blank ML, O'Neill PJ, Steigman CK, Cobb ML, Wilde RA, Havenstein PJ, Chaudry IH. (1993). Reperfusion injury following testicular torsion and detorsion in prepubertal rats. *Urol Res* 21: 389-393.
14. Campbell DJ. (1987). Circulating and tissue angiotensin systems. *J Clin Invest* 79: 1-6.

15. Campbell DJ, Habener JF. (1986). Angiotensinogen gene is expressed and differentially regulated in multiple tissues of the rat. *J Clin Invest* 78: 31-39.
16. Cassis LA, Saye J, Peach MJ. (1988). Location and regulation of rat angiotensinogen messenger RNA. *Hypertension* 11: 591-596.
17. Chakraborty J, Sinha Hikim AP, Jhunjhunwala J. (1986). Torsion of the spermatic cord- a long term study of the contralateral testis. *Urol Res* 14: 257-260.
18. Corvol P, Eyries M, Soubrier F. (2004). Peptidyl-dipeptidase A/angiotensin I-converting enzyme. In *Handbook of Proteolytic Enzymes*. Barrett AJ, Rawlings ND, Woessner JF (Editors). Elsevier Academic Press, New York. Sayfa 332-349.
19. Corvol P, Michaud A, Soubrier F, Williams TA. (1995). Recent advances in knowledge of the structure and function of the angiotensin I- converting enzyme. *J Hypertens Suppl* 13: S3-S10.
20. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett AT. (1986). Histopathology of prepubertal rat testes subjected to various durations of spermatic cord torsion. *J Androl* 7: 23-31.
21. Cosentino MJ, Rabinowitz R, Valvo JR, Cockett AT. (1984). The effect of prepubertal spermatic cord torsion on subsequent fertility in rats. *J Androl* 5: 93-98.
22. Currie BG, Kern IB, Hagan BE. (1989). Torsion of the testis. *Med J Aust* 151: 568-574.
23. Cushman DW, Cheung HS. (1971). Concentrations of angiotensin-converting enzyme in tissues of the rat. *Biochim Biophys Acta* 250: 261-265.
24. De Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger TH. (2000). Angiotensin II receptors. *International union of pharmacology. XXIII. Pharmacol Rev* 52: 415-472.
25. Deschepper CF, Mellon SH, Cumin F, Baxter JD, Ganong WF. (1986). Analysis by immunocytochemistry and in situ hybridization of renin and its mRNA in kidney, testis, adrenal and pituitary of the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 7552-7556.
26. Dinh DT, Frauman AG, Johnston CI, Fabiani ME. (2001). Angiotensin receptors: distribution, signalling and function. *Clin Sci (Lond)* 100(5): 481-492.

27. Dokucu AI, Ozturk H, Ozdemir E, Ketani A, Büyükbayram H, Yücesan S. (2000). The protective effects of nitric oxide on the contralateral testis in prepubertal rats with unilateral testicular torsion. *BJU Int* 85: 767-771.
28. Dostal DE, Baker KM. (1999). The cardiac renin-angiotensin system: conceptual or a regulator of cardiac function? *Circ Res* 85 (7): 643-650.
29. Dostal LA, Kim SN, Schardein JL, Anderson JA. (1991). Fertility and perinatal/postnatal studies in rats with the angiotensin-converting enzyme inhibitor, quinapril. *Fundam Appl Toxicol* 17: 684-695.
30. Dunne PJ, O'Loughlin BS. (2000). Testicular torsion: time is the enemy. *Aust N Z J Surg* 70: 441-442.
31. Dzau VJ, Ellison KE, Brody T, Ingelfinger J, Pratt RE. (1987). A comparative study of the distributions of renin and angiotensinogen messenger ribonucleic acids in rat and mouse tissues. *Endocrinology* 120: 2334-2338.
32. Ehlers MR, Fox EA, Strydom DJ, Riordan JF. (1989). Molecular cloning of human testicular angiotensin-converting enzyme: the testis isozyme is identical to the C-terminal half of endothelial angiotensin-converting enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 7741-7745.
33. Ehlers MRW, Maeder DL, Kirsch RE. (1986). Rapid affinity chromatographic purification of human lung and kidney angiotensin-converting enzyme with the novel N-carboxyalkyl dipeptide inhibitor N-[1(S)-carboxy-5-aminopentyl] glycylglycine. *Biochimica Biophysica Acta*. 883: 361-372.
34. Ehlers MR, Riordan JF. (1989). Angiotensin-converting enzyme: new concepts concerning its biologic role. *Biochemistry* 28: 5311-5318.
35. El-Dorry HA, Bull HG, Iwata K, Thornberry NA, Cordes EH, Soffer RL. (1982). Molecular and catalytic properties of rabbit testicular dipeptidyl carboxypeptidase. *J Biol Chem* 257: 14128-14133.
36. Erdös EG. (1990). Angiotensin I-converting enzyme and the changes in our concepts through the years. Lewis K Dahl memorial lecture. *Hypertension* 16: 363-370.
37. Esther CR Jr, Marino EM, Bernstein KE. (1997). The role of angiotensin converting enzyme in blood pressure control, renal function and male fertility. *Trends Endocrinol Metab* 8: 181-186.
38. Esther CR Jr, Howard TE, Marino EM, Goddard JM, Capecchi MR, Bernstein KE. (1996). Mice lacking angiotensin-converting enzyme have low blood pressure, renal pathology and reduced male fertility. *Lab Invest* 74: 953-965.

39. Filho DW, Torres MA, Bordin AL, Crezcynski- Pasa TB, Boveris A. (2004). Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury. *Mol Aspects Med* 25(1-2): 199-210.
40. Foresta C, Indino M, Manoni F, Scandellari C. (1987). Angiotensin converting enzyme content of human spermatozoa and its release during capacitation. *Fertil Steril* 47: 1000-1003.
41. Foresta C, Mioni R, Rossato M, Varotto A, Zorzi M. (1991). Evidence for the involvement of sperm angiotensin converting enzyme in fertilization. *Int J Androl* 14: 333-339.
42. Franke FE, Pauls K, Kerkman L, Steger K, Klonisch T, Metzger R, Alhenc-Gelas F, Burkhardt E, Bergmann M, Danilov SM. (2000). Somatic isoform of angiotensin I- converting enzyme in the pathology of testicular germ cell tumors. *Hum Pathol* 31: 1466-1476.
43. Franke FE, Pauls K, Metzger R, Danilov SM. (2003). Angiotensin I converting enzyme and potential substrates in human testis and testicular tumours. *APMIS* 111: 234-244.
44. Fraser LR, Pondel MD, Vinson GP. (2001). Calcitonin, angiotensin II and FPP significantly modulate mouse sperm function. *Mol Hum Reprod* 7: 245-253.
45. Gokce G, Karboga H, Yıldız E, Ayan S, Gultekin Y. (2008). Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor and angiotensin II type 1 receptor blockade on apoptotic changes in contralateral testis following unilateral testicular torsion. *Int Urol Nephrol* 40: 989-995.
46. Groove KL, Speth RC, Senger PL. (1997). Angiotensin II as a semen extender component increases retention of spermatozoa within the uterus of the heifer. *Reprod Fertil Dev* 9: 545-549.
47. Gur Y, Breitbart H, Lax Y, Rubinstein S, Zamir N. (1998). Angiotensin II induces acrosomal exocytosis in bovine spermatozoa. *Am J Physiol* 275: E87-E93.
48. Guyton AC, Hall JE. (1996). *Tıbbi Fizyoloji*. Çavuşoğlu H. (Çeviri Editörü). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. Sayfa: 227-228.
49. Hagaman JR, Moyer JS, Bachman ES, Sibony M, Magyar PL, Welch JE, Smithies O, Krege JH, O'Brien DA. (1998). Angiotensin-converting enzyme and male fertility. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 2552-2557.
50. Hall JE. (2003). Historical perspective of the renin- angiotensin system. *Mol Biotechnol* 24(1): 27-39.

51. Hecht NB. (1990). Regulation of “haploid expressed genes” in male germ cells. *J Reprod Fertil* 88: 679-693.
52. Hecht NB, Bower PA, Waters SH, Yelick PC, Distel RJ. (1986). Evidence for haploid expression of mouse testicular genes. *Exp Cell Res* 164: 183-190.
53. Hellmann W, Suzuki F, Ohkubo H, Nakanishi S, Ludwig G, Ganten D. (1988). Angiotensinogen gene expression in extrahepatic rat tissues: application of a solution hybridization assay. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 338: 327-331.
54. Hooper NM. (1991). Angiotensin converting enzyme: implications from molecular biology for its physiological functions. *Int J Biochem* 23: 641-647.
55. Hooper NM, Karran EH, Turner AJ. (1997). Membrane protein secretases. *Biochem J* 321: 265-279.
56. Howard TE, Shai SY, Langford KG, Martin BM, Bernstein KE. (1990). Transcription of testicular angiotensin-converting enzyme (ACE) is initiated within the 12th intron of the somatic ACE gene. *Mol Cell Biol* 10: 4294-4302.
57. Hubert C, Houot A, Corvol P, Soubrier P. (1991). Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene. Two alternate promoters correspond to evolutionary steps of a duplicated gene. *J Biochem* 266: 15377-15383.
58. Janetschek G, Schreckenberger F, Mikuz G, Marberger M. (1988). Experimental testicular torsion: effect on endocrine and exocrine function and contralateral testicular histology. *Urol Res* 16: 43-47.
59. Jhunjhunwala JS, Desai A, Kropp KA. (1976). Torsion of the spermatic cord. An experimental study. *Invest Urol* 13: 318-320.
60. Jhunjhunwala J, Sinha Hikim AP, Budd CA, Chakraborty C. (1986). Germ cell degeneration in the contralateral testis of the guinea pig with unilateral torsion of the spermatic cord. Quantitative and ultrastructural studies. *J Androl* 7: 16-22.
61. Juretschke LJ. (2000). Unilateral neonatal testicular torsion. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 29: 451-456.
62. Kamada K, Taihara H, Shirataki S. (1993). Flow cytometric DNA analysis demonstrating contralateral testicular deterioration in experimental unilateral testicular torsion of prepubertal rats. *Androl* 25: 239-244.
63. Kamata M, Hu J, Shibahara H, Nakagawa H. (2001). Assay of testicular angiotensin-converting enzyme activity in human spermatozoa. *Int J Androl* 24: 225-231.

64. Kanehara H, Song K, Hirai K, Ueda H, Shiota N, Azuma H, Katsuoka Y, Miyazaki H, Miyazaki M. (1998). Involvement of angiotensin II receptor subtypes during testicular development in rats. *Int J Androl* 21 (4): 186-195.
65. Karagüzel G, Güngör F, Karagüzel G, Yıldız A, Melikoğlu M. (2004). Unilateral spermatic cord torsion without ipsilateral spermatogenetic material: effects on testicular blood flow and fertility potential. *Urol Res* 32: 51-54.
66. Kaya M, Harrison RG. (1975). An analysis of the effect of ischemia on testicular ultrastructure. *J Pathol* 117: 105-117.
67. Kessler SP, Rowe TM, Gomos JB, Kessler PM, Sen GC. (2000). Physiological non-equivalence of the two isoforms of angiotensin-converting enzyme. *J Biol Chem* 275: 26259-26264.
68. Khanum A, Dufau ML. (1988). Angiotensin II receptors and inhibitory actions in Leydig cells. *J Biol Chem* 263: 5070-5074.
69. Kierszenbaum AL. (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. Demir R (Çeviri Editörü). Palme Yayıncılık, Ankara. Sayfa 533-541.
70. Kitami Y, Okura T, Marumoto K, Wakamiya R, Hiwada K. (1992). Differential gene expression and regulation of type-I angiotensin II receptor subtypes in the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 188: 446-452.
71. Klett C, Hellmann W, Ganten D, Hackenthal E. (1983). Tissue distribution of angiotensinogen mRNA during experimental inflammation. *Inflammation* 17: 183-197.
72. Koşar A, Sarica K, Küpeli B, Alçıgır G, Süzer O, Küpeli S. (1997). Testicular torsion: evaluation of contralateral testicular histology. *Int Urol Nephrol* 29: 351-356.
73. Köhn FM, Miska W, Schill WB. (1995). Release of angiotensin-converting enzyme (ACE) from human spermatozoa during capacitation and acrosome reaction. *J Androl* 16: 259-265.
74. Krarup T. (1978). The testes after torsion. *Br J Urol* 50: 43-46.
75. Krege JH, John SW, Langenbach LL, Hodgin JB, Hagaman JR, Bachman ES, Jennette JC, O'Brien DA, Smithies O. (1995). Male-female differences in fertility and blood pressure in ACE-deficient mice. *Nature* 375: 146-148.
76. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. (2000). *Temel Patoloji*. Çevikbaş U. (Çeviri Editörü). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. Sayfa 11.

77. Kumar RS, Kusari J, Roy SN, Soffer RL, Sen GC. (1989). Structure of testicular angiotensin - converting enzyme: A segmental mosaic isozyme. *J Biol Chem* 264: 16754-16758.
78. Kurdi M, De Mello WC, Booz GW. (2005). Working outside the system: an update on the unconventional behavior of the renin-angiotensin system components. *Int J Biochem Cell Biol* 37(7): 1357-1367.
79. Langford KG, Zhou Y, Russel LD, Wilcox JN, Bernstein KE. (1993). Regulated expression of testis angiotensin-converting enzyme during spermatogenesis in mice. *Biol Reprod* 48:1210-1218.
80. Lanzillo JJ, Stevens J, Dasarathy Y, Yotsumoto H, Fanburg BL. (1985). Angiotensin-converting enzyme from human tissues. Physicochemical, catalytic, and immunological properties. *J Biol Chem* 260: 14938-14944.
81. Lattion AL, Soubrier F, Allegrini J, Hubert C, Corvol P, Alhenc- Gelas F. (1989). The testicular transcript of the angiotensin I- converting enzyme encodes for the ancestral, non- duplicated form of the enzyme. *FEBS Lett* 252: 99-104.
82. Lavoie JL, Sigmund CD. (2003). Minireview: overview of the renin-angiotensin system- an endocrine and paracrine system. *Endocrinology* 144: 2179-2183.
83. Leung PS, Chan HC, Fu LX, Leung PY, Chew SB, Wong PY. (1997). Angiotensin II receptors: localization of type I and type II in rat epididymides of different developmental stages. *J Membr Biol* 157(1): 97- 103.
84. Leung PS, Sernia C. (2003). The renin-angiotensin system and male reproduction: new functions for old hormones. *J Mol Endocrinol* 30(3): 263-270.
85. Leung PS, Wong TP, Sernia C. (1999). Angiotensinogen expression by rat epididymis: evidence for an intrinsic angiotensin generating system. *Mol Cell Endocrinol* 155: 115-122.
86. Lievano G, Nguyen L, Radhakrishnan J, Fornell L, John E. (1999). New animal model to evaluate testicular blood flow during testicular torsion. *J Pediatr Surg* 34: 1004-1006.
87. Lysiak JJ, Turner SD, Nguyen QA, Singbartl K, Ley K, Turner TT. (2001). Essential role of neutrophils in germ- cell specific apoptosis following ischemia/ reperfusion injury of the mouse testis. *Biol Reprod* 65(3): 718-725.
88. Lysiak JJ, Turner SD, Turner TT. (2000). Molecular pathway of germ cell apoptosis following ischemia/reperfusion of the rat testis. *Biol Reprod* 63: 1465-1472.

89. Millan MA, Aguilera G. (1988). Angiotensin II receptors in testes. *Endocrinology* 122: 1984-1990.
90. Moore KL, Persaud TVN. (2002). Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H (Editörler). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. Sayfa 323-325, 730.
91. Nagler HM, White RD. (1982). The effect of testicular torsion on the contralateral testis. *J Urol* 128: 1343-1348.
92. Nguyen L, Lievano G, Ghosh L, Radhakrishnan J, Fornell L, John E. (1999). Effect of unilateral testicular torsion on blood flow and histology of contralateral testes. *J Pediatr Surg* 34: 680-683.
93. Ohkubo H, Nakayama K, Tanaka T, Nakanishi S. (1986). Tissue distribution of rat angiotensinogen mRNA and structural analysis of its heterogeneity. *J Biol Chem* 261: 319-323.
94. O'Mahony OA, Djahanbakhch O, Mahmood T, Puddefoot JR, Vinson GP. (2000). Angiotensin II in human seminal fluid. *Hum Reprod* 15: 1345-1349.
95. Otçu S, Durakoğugil M, Orer HS, Tanyel FC. (2002). Contralateral genitofemoral sympathetic nerve discharge increases following ipsilateral testicular torsion. *Urol Res* 30: 324-328.
96. Önen A. (2006). Akut Skrotum ve Varikosel. "Çocuk Cerrahisi ve Çocuk Ürolojisi" Önen A (Editör). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. Sayfa 44.
97. Pakyz RE, Heindel RM, Kallish M, Cosentino MJ. (1990). Spermatic cord torsion: effects of cyclosporine and prednisone on fertility and the contralateral testis in the rat. *J Androl* 11(5): 401-408.
98. Pandey KN, Maki M, Inagami T. (1984). Detection of renin mRNA in mouse testis by hybridization with renin cDNA probe. *Biochem Biophys Res Commun*. 125 (2): 662-667.
99. Pandey KN, Misono KS, Inagami T. (1984). Evidence for intracellular formation of angiotensins: coexistence of renin and angiotensin-converting enzyme in Leydig cells of rat testis. *Biochem Biophys Res Commun* 122: 1337-1343.
100. Pandey KN, Inagami T. (1986). Regulation of renin angiotensins by gonadotropic hormones in cultured murine Leydig tumor cells. Release of angiotensin but not renin. *J Biol Chem* 261: 3934-3938.
101. Parmentier M, Inagami T, Pochet R, Desclin JC. (1983). Pituitary-dependent renin- like immunoreactivity in rat testis. *Endocrinology* 112: 1318-1323.

102. Pauls K, Fink L, Franke FE. (1999). Angiotensin-converting enzyme (CD 143) in neoplastic germ cells. *Lab Invest* 79: 1425-1435.
103. Pauls K, Metzger R, Steger K, Klonisch T, Danilov S, Franke FE. (2003). Isoforms of angiotensin I-converting enzyme in the development and differentiation of human testis and epididymis. *Andrologia* 35: 32-43.
104. Phillips MI, Speakman EA, Kimura B. (1993). Levels of angiotensin and molecular biology of the tissue renin angiotensin systems. *Regul Pept* 43: 1-20.
105. Poisner AM. (1998). The human placental renin-angiotensin system. *Front Neuroendocrinol* 19: 232-252.
106. Ramaraj P, Kessler SP, Colmenares C, Sen GC. (1998). Selective restoration of male fertility in mice lacking angiotensin-converting enzymes by sperm-specific expression of the testicular isozyme. *J Clin Invest* 102: 371-378.
107. Ramchandran R, Sen GC, Misono K, Sen I. (1994). Regulated cleavage secretion of the membrane-bound angiotensin-converting enzyme. *J Biol Chem* 269(3): 2125-2130.
108. Re RN. (2004). Tissue renin angiotensin systems. *Med Clin North Am* 88(1): 19-38.
109. Reid IA, Morris BJ, Ganong WF. (1978). The renin-angiotensin system. *Annu Rev Physiol.* 40: 377-410.
110. Rorth M, Rajpert- De Meyts E, Andersson L, Dieckmann KP, Fossa SD, Grigor KM, Hendry WF, Herr HW, Looijenga LH, Oosterhuis JW, Skakkebaek NE. (2000). Carcinoma in situ in the testis. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 205: 166-186.
111. Ross MH, Pawlina W. (2006). *Histology. A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology.* Taylor C, Scogna KH, Ajello JP (Editörler). Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. Sayfa 730.
112. Rossi F, Ferraresi A, Romagni P, Silvestroni L, Santiemma V. (2002). Angiotensin II stimulates contraction and growth of testicular peritubular myoid cells in vitro. *Endocrinology* 143 (8): 3096-3104.
113. Rousseau A, Michaud A, Chauvet MT, Lenfant M, Corvol P. (1995). The homoregulatory peptide N-Acetyl-Ser-Asp-Lys-Pro is a natural and specific substrate of the N-terminal active site of human angiotensin-converting enzyme. *J Biol Chem* 270: 3656-3661.
114. Russell LD, Ettlin RA, Sinha Hikim AP, Clegg ED. (1990). *Histological and Histopathological Evaluation of The Testis.* Cache River Pres, Florida. Sayfa 22.

115. Sabeur K, Vo AT, Ball BA. (2000). Effects of angiotensin II on the acrosome reaction in equine spermatozoa. *J Reprod Fertil* 120: 135-142.
116. Salman AB, Kiliç K, Tanyel FC. (1997). Torsion of only spermatic cord in the absence of testis and/or epididymis results in contralateral testicular hypoxia. *Urol Res* 25: 413-415.
117. Sarıca K, Küpeli B, Budak M, Koşar A, Kavukçu M, Durak İ, Göğüş O. (1997). Influence of experimental spermatic cord torsion on the contralateral testis in rats. Evaluation of tissue free oxygen radical scavenger enzyme levels. *Urol Int* 58: 208-212.
118. Savas C, Ozguner FI, Ozguner M, Delibas N. (2003). The effects of unilateral testicular ischemia and hemicastration on contralateral testicular IGF-1 level, histology and lipid peroxidation. *Int Urol Nephrol* 35: 231-235.
119. Savas C, Ozguner M, Ozguner F, Delibas N. (2003). The effects of human chorionic gonadotropin treatment on the contralateral side in unilateral testicular torsion. *Int Urol Nephrol* 35: 237-245.
120. Savas C, Ozogul C, Karaoz E, Bezir M. (2002). Ischemia, whether from ligation or torsion, causes ultrastructural changes on the contralateral testis. *Scand J Urol Nephrol* 36: 302-306.
121. Sen I, Samanta H, Livingston W III, Sen GC. (1991). Establishment of transfected cell lines producing testicular angiotensin- converting enzyme. Structural relationship between its secreted and cellular forms. *J Biol Chem* 266 (2): 21985-21990.
122. Shibahara H, Kamata M, Hu J, Nakagawa H, Obara H, Kondoh N, Shima H, Sato I. (2001). Activity of testis angiotensin converting enzyme (ACE) in ejaculated human spermatozoa. *Int J Androl* 24:295-299.
123. Sibony M, Gasc JM, Soubrier F, Alhenc-Gelas F, Corvol P. (1993). Gene expression and tissue localization of the two isoforms of angiotensin I converting enzyme. *Hypertension* 21: 827-835.
124. Sibony M, Segretain D, Gasc JM. (1994). Angiotensin converting enzyme in murine testis: step-specific expression of the germinal isoform during spermiogenesis. *Biol Reprod* 50: 1015-1026.
125. Skeggs LT, Kahn JR, Shumway NP. (1956). The preparation and function of the hypertensin-converting enzyme. *J Exp Med* 103: 295-299.

126. Skidgel RA, Erdös EG. (1993). Biochemistry of angiotensin I-converting enzyme. In: Renin Angiotensin System. Robertson JIS, Nichols MG (Editörler). Gower Medical, London Sayfa 10.1-10.10
127. Soffer RL. (1981). Biochemical Regulation of Blood Pressure. Soffer RL (Editör). John Wiley & Sons, New York. Sayfa 123-164.
128. Soubrier F, Alhenc –Gelas F, Hubert C, Allegrini J, John M, Tregar G, Corvol F. (1988). Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 9386-9390.
129. Spence SG, Cukierski MA, Manson JM, Robertson RT, Eydeloth RS. (1995). Evaluation of the reproductive and developmental toxicity of the AT₁-selective angiotensin II receptor antagonist losartan in rats. *Teratology* 51: 383-397.
130. Speth RC, Daubert DL, Grove KL. (1999). Angiotensin II: a reproductive hormone too? *Regul Pept* 79(1): 25-40.
131. Stéphan J, Melaine N, Ezan E, Hakovirta H, Maddocks S, Toppari J, Garnier D, Wdizieczak- Bakala J, Jégou B. (2000). Source, catabolism and role of the tetrapeptide N-acetyl-ser-asp-lys-Pro within the testis. *J Cell Sci* 113: 113-121.
132. Strittmatter SM, Snyder SH. (1984). Angiotensin-converting enzyme in the male rat reproductive system: autoradiographic visualization with [3H]captopril. *Endocrinology* 115: 2332-2341.
133. Stroth U, Unger T. (1999). The renin-angiotensin system and its receptors. *J Cardiovasc Pharmacol* 33(1): 21-43.
134. Şeftalioğlu A. (1998). Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. Tıp ve Teknik Yayıncılık, Ankara. Sayfa 328-330, 346-350.
135. Tander B, Sarica K, Baskin D, Abbasoglu L, Sakiz D, Bulut M. (1998). Division of the genitofemoral nerve and late orchiectomy: effects on the contralateral testis in ipsilateral testicular torsion. *Pediatr Surg Int* 14: 14-16.
136. Tanyel FC, Aydın A, Banoglu E, Isimer A, Büyükpamukçu N. (1999). Noradrenaline and nitrite-nitrate concentrations in the contralateral testes during ipsilateral spermatic cord torsion in the presence or absence of a testis and epididymis. *BJU Int* 83(7): 833-836.
137. Tanyel FC, Buyukpamukcu N, Hicsonmez A. (1989). Contralateral testicular blood flow during unilateral testicular torsion. *Br J Urol* 63(5): 522-524.
138. Turner TT. (1985). Acute experimental testicular torsion. No effect on the contralateral testis. *J Androl* 6: 65-72.

139. Turner TT. (1987). On unilateral testicular and epididymal torsion: no effect on the contralateral testis. *J Urol* 138: 1285-1290.
140. Turner TT, Bang HJ, Lysiak JJ. (2005). Experimental testicular torsion: reperfusion blood flow and subsequent testicular venous plasma testosterone concentrations. *Urology* 65(2): 390-394.
141. Turner TT, Brown KJ. (1993). Spermatoc cord torsion: loss of spermatogenesis despite return of blood flow. *Biol Reprod* 49(2): 401-407.
142. Turner TT, Miller DW. (1997). On the synthesis and secretion of rat seminiferous tubule proteins in vivo after ischemia and germ cell loss. *Biol Reprod* 57: 1275-1284.
143. Turner TT, Tung KS, Tomomasa H, Wilson LW. (1997). Acute testicular ischemia results in germ cell specific apoptosis in the rat. *Biol Reprod* 57(6):1267-1274.
144. Uguralp S, Bay Karabulut A, Mizrak B, Kaymaz F, Kızıltay A, Hasırcı N. (2004). The effect of sustained and local administration of epidermal growth factor on improving bilateral testicular tissue after torsion. *Urol Res* 32: 323-331.
145. Vanha-Pertulla T, Mather JP, Bardin CW, Moss SB, Bellve AR. (1985). Localization of the angiotensin converting enzyme activity in testis and epididymis. *Biol Reprod* 33: 870-877.
146. Velletri PA. (1985). Testicular angiotensin I- converting enzyme (E.C.3.4.15.1). *Life Sci* 36:1597-1608.
147. Velletri PA, Billingsley ML, Lovenberg W. (1985). Thermal denaturation of rat pulmonary and testicular angiotensin converting enzyme isozymes. Effects of chelators and CoCl₂. *Biochim Biophys Acta* 839: 71-82.
148. Vinson GP, Mehta J, Evans S, Matthews S, Puddefoot JR, Saridogan E, Holt WV, Djahanbakhch O. (1996). Angiotensin II stimulates sperm motility. *Regul Pept* 67: 131-135.
149. Vinson GP, Puddefoot JR, Ho MM, Barker S, Mehta J, Saridogan E, Djahanbakhch O. (1995). Type 1 angiotensin II receptors in rat and human sperm. *J Endocrinol* 144 (2): 369-378.
150. Vinson GP, Saridogan E, Puddefoot JR, Djahanbakhch O. (1997). Tissue renin-angiotensin systems and reproduction. *Hum Reprod* 12: 651- 662.
151. Wallace DM, Gunter PA, Landon GV, Pugh RC, Hendry WF. (1982). Sympathetic orchio-pathia-an experimental and clinical study. *Br J Urol* 54: 765-768.

152. Willison K, Ashworth A. (1987). Mammalian spermatogenic gene expression. *Trends Genet* 3: 351-355.
153. Wong P, Fu W, Huang SJ, Law WK. (1990). Effect of angiotensins on electrogenic anion transport in monolayer cultures of rat epididymis. *J Endocrinol* 125: 449-456.
154. Wong PYD, Uchendu CN. (1990). The role of angiotensin converting enzyme in the rat epididymis. *J Endocrinol* 125: 457-465.
155. Wong PYD, Uchendu CN. (1991). Studies on renin-angiotensin system in primary monolayer cell cultures of the rat epididymis. *J Endocrinol* 131: 287-293.
156. Wyllie A, Duvall E. (1992). Cell Injury and Death. In: Mc- Gee JOD, Isoocson PG, Wright NA. *Oxford Textbook of Pathology*. Oxford University Press, New York. Sayfa 147-148.

8. ÖZGEÇMİŞ

10. 07. 1979 yılında İstanbul’da doğdum. İlkokulu Afyon Atatürk İlköğretim Okulu’nda, ortaokul ve liseyi Afyon Kocatepe Anadolu Lisesi’nde okudum. 1997 yılında İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesini kazandım, bu fakülteden 2002 yılında mezun oldum. 2003 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında doktora eğitime başladım. 2005-2007 yılları arasında bu bölümde araştırma görevlisi olarak çalıştım. Halen Fırat Üniversitesi Mediko Sosyal Biriminde diş hekimi olarak görev yapmaktayım.