

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TEK TARAFLI TORSİYON/DETORSİYON SONRASI İPSİLATERAL VE
KONTRALATERAL SIÇAN TESTİS DOKUSUNDA M1/M2 MAKROFAJ
POLARİZASYONUNUN BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Merve KAVAK BALGETİR

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Dürrin Özlem DABAK

ELAZIĞ
2021

İTHAF

Canım Aileme



TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, değerli danışman hocam Prof. Dr. Dürrin Özlem DABAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Uzmanlık eğitimimdeki katkılarından dolayı Prof. Dr. İbrahim Enver OZAN'a, Prof Dr. Leyla CANPOLAT KOYUTÜRK'e, Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU'na, Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na ve Doç. Dr. Nevin KOCAMAN'a teşekkür ederim.

Hayattaki en büyük şansım, değerli eşim Ferhat BALGETİR'e her anımda sevgi ve saygıyla yanımda olduğu için çok teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında bana destek olan değerli dostlarım Arş. Gör. Dr. Nalan KAYA TEKTEMUR'a, Arş. Gör. Dr. Sena ÖZCAN YILDIRIM'a, Arş. Gör. Dr. Ahmet TEKTEMUR'a, Öğr. Gör. Tuba YALÇIN'a çok teşekkür ederim.

Anabilim dalımız Tıpta Uzmanlık öğrencileri Arş. Gör. Dr. Fatma Tuba KARAKAŞ'a, Arş. Gör. Dr. Teslime Melikhan ALKAN'a, Arş. Gör. Dr. Serhat HANÇER'e teşekkür ederim.

Tezime katkılarından dolayı Prof. Dr. Gaffari TÜRK'e, Dr. Öğretim Üyesi Ramazan Fazıl AKKOÇ'a, Arş. Gör. Aslıhan ÇAKIR'a ve Doktora Öğr. İbrahim Halil GÜNGÖR'e teşekkürlerimi sunarım.

Aldığım tüm kararlarda beni destekleyen, her zaman yanımda olan değerli babam Celal KAVAK'a, annem Hatice KAVAK'a, kardeşim Fatih KAVAK'a, kız kardeşim canım Şule KAVAK GENÇ'e, eniştem Fatih GENÇ'e ve kardeşimin bana en güzel hediyesi güzel oğlum Selim GENÇ'e sonsuz sevgilerimi sunarım.

ÖZET

Testis torsiyonu veya korda ait yapıların kendi etraflarında dönmesi ile oluşan spermatik kord torsiyonu, ciddi bir ürolojik sorundur ve testis hasarı oluşturarak erkek subfertilitesine neden olur. Tek taraflı testis torsiyonunun kontralateral testiste de hasara yol açtığı bilinmektedir. Testis torsiyonu sonrası kontralateral testis harabiyetinin mekanizması ve patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Makrofajlarla ilgili olarak son zamanlarda ortaya atılan yeni bir kavram olan M1/M2 makrofaj polarizasyonuna göre; M1 makrofajlar süperoksit anyonları, oksijen radikalleri ve nitrojen radikalleri üreterek doku hasarına yol açarlar, M2 makrofajlar ise hücre proliferasyonunu ve doku tamirini arttırarak daha çok fibroziste rol oynarlar. Testisin makrofajlarının çoğu M2 makrofajlardır. Öte yandan testis interstisyel alanları makrofajların yanı sıra mast hücreleri, dendritik hücreler ve lenfositler gibi çeşitli immün sistem hücrelerini de içermektedir. Mevcut çalışmada tek taraflı testis torsiyonunun interstisyel alanda doku tahribatının nedenlerinden olan M1 makrofajlarının sayısında bir artışa ve makrofaj polarizasyonunda değişikliğe neden olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada 8-12 haftalık 63 adet Spraque-Dawley cinsi erişkin erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele 9 gruba ayrıldı: Kontrol, Sham 4 saat, Sham 24 saat, Sham 7 gün, Sham 14 gün, Torsiyon 4 saat, Torsiyon 24 saat, Torsiyon 7 gün, Torsiyon 14 gün olarak gruplar oluşturuldu. Kontrol grubundaki sıçanlara deney süresi boyunca herhangi bir işlem yapılmadı. Torsiyon ve Sham gruplarındaki sıçanların tamamına ise cerrahi işlem uygulandı. Sham gruplarına ait hayvanlarda batın cerrahi olarak açılıp hiçbir işlem yapılmadan 4 saat bekletildi ve süre sonunda kapatıldı. Tüm Torsiyon gruplarında cerrahi olarak batın açılarak sol testis dışarı alınıp saat yönü tersine 720 derece döndürülüp torsiyon oluşturuldu. 4 saat sonra detorsiyon uygulanıp testisler tekrar batın içerisine alınıp kapatıldı. Daha sonra sıçanlar 4 saat, 24 saat, 7 gün veya 14 gün sonunda dekapite edildi. Torsiyonun sperm motilite, morfoloji, sayı ve akrozom bütünlüğü üzerine etkilerinin belirlenmesi için spermiyogram analizi; hormon profillerinin belirlenmesi için ELISA; doku düzeyinde hasar tespiti için hematoksilan – eozin,

PAS-hematoksilen ve Mallory-Azan boyamaları; mast hücrelerinin görüntülenmesi için Toluidin mavisi boyaması; apoptotik hücrelerin tayini için TUNEL metodu ve M1/M2 makrofaj polaritesinin tespiti için CD 68 ve CD 163 immünohistokimyasal boyamaları yapıldı.

Işık mikroskopik düzeyde yapılan değerlendirmelerde Sham gruplarında herhangi bir histopatolojik değişiklik izlenmezken, testis torsiyonunun özellikle ipsilateral tarafta olmak üzere her iki tarafta da ödem, vasküler konjesyon, seminifer tübül epitel organizasyonunda bozulma ve dejenerasyonlar, lümene dökülen immatür germ hücreleri, bazı spermatositlerde ise metafaz arresti, seminifer tübül bazal membranında ayrılma, nekrotik tübüller gibi bulgulara neden olduğu belirlendi. Bu bulguların şiddet ve yaygınlığının torsiyon gruplarında 4. saatten 14. güne gidildikçe artarak devam ettiği görüldü. Tüm grupların Cosentino skorlamaları da histopatolojik bulgular ile uyumluydu. Öte yandan seminifer tübül dejenerasyonunun arttığı torsiyon gruplarında spermatogenezis belirteci olan Johnsen skorları da düşük izlendi. İpsilateral testislerde artan tübül hasarı ile uyumlu şekilde seminifer tübül çapları ve germinal epitel kalınlıklarının özellikle Torsiyon 14 gün grubunda önemli ölçüde azaldığı belirlendi. Mast hücrelerinin tespiti için yapılan Toluidin mavi boyaması değerlendirildiğinde kontralateral testislerde Kontrole kıyasla Sham ve Torsiyon gruplarında değişim görülmedi. Kontralateral testislerde sadece Torsiyon 14 gün grubunda mast hücre artışı görüldü. İpsilateral testislerin mast hücrelerine bakıldığında Kontrol ve Sham grupları arasında fark gözlenmezken; Torsiyon gruplarının tamamında mast hücre sayılarında belirgin artış görüldü. Apoptoize giden hücrelerin sayımı için uygulanan TUNEL metodu değerlendirildiğinde, kontralateral testislerde gruplar arasında önemli bir fark görülmedi. İpsilateral testislerde ise Torsiyon 4 saat, Torsiyon 24 saat ve Torsiyon 7 gün gruplarında apoptotik hücre sayılarının arttığı belirlendi. Torsiyon 14 gün grubunda ise artan nekrotik tübüllerle uyumlu şekilde apoptotik indeksin azaldığı tespit edildi. Deney gruplarında sperm motilite değerlerinin analizi yapıldığında, Kontrol grubu ile Sham grupları arasında fark yoktu. Ancak Kontrol grubuna kıyasla Torsiyon gruplarında motilitenin önemli ölçüde azaldığı görüldü. Torsiyon grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde ise Torsiyon 7 gün ve Torsiyon 14 gün gruplarında

motilite açısından dikkate değer azalma göze çarpmaktaydı. Gruplar arasında sperm yoğunluğu ve spermelerde anormal baş, anormal kuyruk ve toplam anormal sperm oranı açısından yapılan karşılaştırmada anlamlı fark olmadığı görüldü. Testis torsiyonunun erkek hormon düzeyleri üzerine etkileri ELİSA analizleri ile belirlendi. Yapılan analizler sonucunda Testosteron değeri Kontrol grubu ile kıyaslandığında Sham ve Torsiyon gruplarında anlamlı düşüş gösterdi. Ancak Torsiyon grupları Testosteron düzeyleri açısından birbirine benzerdi. FSH değeri Kontrol grubu ile Sham grupları arasında anlamlı bir fark göstermezken; Kontrol grubuna kıyasla Torsiyon 24 saat, Torsiyon 7 gün ve Torsiyon 14 gün gruplarında FSH düzeylerinin düştüğü belirlendi.

Öte yandan torsiyon-detorsiyon sonrası M1/M2 makrofaj polarizasyonunda değişiklikler tespit edildi. Torsiyon-detorsiyon gruplarımızda kontralateral testis dokusunda M1 makrofaj artışı gözlemlendi.

Torsiyon-detorsiyon sonrası kontralateral testislerde meydana gelen değişikliklerin nedenleri hala tam olarak aydınlatılmamış olsa da mevcut çalışmadan elde edilen bulgular makrofaj ve mast hücrelerinin de katıldığı immün hücrelerle ilişkili mekanizmaların bu süreçte önemli bir rol oynayabileceği ihtimalini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Torsiyon, Detorsiyon, M1 Makrofaj, M2 Makrofaj

ABSTRACT

Determination of M1/M2 macrophage polarization in the ipsilateral and contralateral rat testicular tissue after unilateral torsion/detorsion

Spermatic cord torsion induced by testicular torsion or the rotation of the structures belonging to the cord on their axis is a serious urological problem and causes male subfertility by causing testicular damage. It is known that unilateral testicular torsion causes damage to the contralateral testis. The mechanism and pathogenesis of contralateral testicular injury after testicular torsion has not been fully elucidated. According to the M1/M2 macrophage polarization, which is a new concept recently introduced in relation to macrophages; M1 macrophages cause tissue damage by producing superoxide anions, oxygen radicals, and nitrogen radicals, while M2 macrophages play a role in fibrosis by increasing cell proliferation and tissue repair. Most of the testicular macrophages are M2 macrophages. On the other hand, testicular interstitial areas contain various immune system cells such as mast cells, dendritic cells, and lymphocytes as well as macrophages. In the present study, it was aimed to determine whether unilateral testicular torsion caused an increase in the number of M1 macrophages and a change in macrophage polarization, which is one of the causes of tissue damage in the interstitial area.

In the study, 8-12 weeks old 63 male Sprague-Dawley rats were used. Rats were randomly divided into 9 groups: Control, Sham 4 hours, Sham 24 hours, Sham 7 days, Sham 14 days, Torsion 4 hours, Torsion 24 hours, Torsion 7 days, Torsion 14 days. The rats in the control group kept without any treatment during the experimental period. The surgical procedure was performed on all rats in the torsion and sham groups. In animals belonging to the sham groups, the abdomen was surgically opened, kept for 4 hours without any operation, and was closed at the end of the period. In all torsion groups, the abdomen was surgically opened, the left testis was removed and rotated 720 degrees counterclockwise and created torsion. After 4 hours, detorsion was performed and the testes were taken back into the abdomen and closed. Then, the rats were decapitated after 4 hours, 24

hours, 7 days or 14 days. Spermogram analysis to determine the effects of torsion on sperm motility, morphology, number, and acrosome integrity; ELISA for determination of hormone profiles; hematoxylin-eosin, PAS-hematoxylin and Mallory-Azan stainings for tissue damage detection; Toluidine blue staining for visualization of mast cells; TUNEL method for the determination of apoptotic cells, and immunohistochemical staining of CD 68 and CD 163 for the determination of M1/M2 macrophage polarity. In light microscopic evaluations, no histopathological changes were observed in the sham groups, but it was determined that testicular torsion caused edema on both sides, especially on the ipsilateral side, vascular congestion, disruption and degeneration in the seminiferous tubule epithelial organization, immature germ cells pouring into the lumen, metaphase arrest in some spermatocytes, detachment of the tubule basement membrane and necrotic tubules. It was observed that the severity and prevalence of these findings continued to increase from the 4th hour to the 14th day in the torsion groups. Cosentino scores of all groups were also consistent with histopathological findings. On the other hand, Johnsen scores, which are a marker of spermatogenesis, were also low in torsion groups with increased seminiferous tubular degeneration. Consistent with increased tubule damage in ipsilateral testes, it was determined that seminiferous tubule diameters and germinal epithelial thickness decreased significantly, especially in the Torsion 14 days group. When Toluidine blue staining for the detection of mast cells was evaluated, no change was observed in the sham and torsion groups in the contralateral testes compared to the control. In the contralateral testicles, mast cell increase was observed only in the Torsion 14 days group. When the mast cells of the ipsilateral testes were analyzed, there was no difference between the control and sham groups; there was a significant increase in mast cell numbers in all torsion groups. When the TUNEL method performed for counting cells with apoptosis was evaluated, there was no significant difference between the groups in the contralateral testes. In the ipsilateral testes, it was determined that the number of apoptotic cells increased in Torsion 4 hours, Torsion 24 hours, and Torsion 7 days groups. In the torsion 14 days group, it was found that the apoptotic index decreased in accordance with the increasing necrotic tubules. When the sperm

motility values were analyzed in the experimental groups, there was no difference between the control group and the Sham groups. However, it was observed that motility was significantly decreased in Torsion groups compared to the control group. When the torsion groups were evaluated among themselves, there was a remarkable decrease in the sperm motility in Torsion 7 days and Torsion 14 days groups. There was no significant difference between the groups in terms of sperm density and abnormal head, abnormal tail, and total abnormal sperm ratio. The effects of testicular torsion on male hormone levels were determined by ELISA analysis. As a result of the analysis, the testosterone levels showed a significant decrease in the Sham and Torsion groups compared to the control group. However, Torsion groups were similar in terms of Testosterone levels. While FSH levels did not show a significant difference between the control group and Sham groups; It was determined that FSH levels decreased in Torsion 24 hours, Torsion 7 days, and Torsion 14 days groups compared to the control group. On the other hand, changes in M1/M2 macrophage polarization were detected after torsion-detorsion. In our torsion-detorsion groups, an increase in M1 macrophage was observed in the contralateral testicular tissue.

Although the reasons for the changes in the contralateral testes after torsion-detorsion are still not fully elucidated, the findings obtained from the present study show that the mechanisms related to immune cells involving macrophages and mast cells may play an important role in this process.

Keywords: Torsion, Detortion, M1 Macrophages, M2 Macrophages

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
DEKANLIK ONAYI	ii
İTHAF	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	xi
TABLO LİSTESİ	xvi
ŞEKİL LİSTESİ	xvii
KISALTMALAR LİSTESİ	xx
1. GİRİŞ	1
1.1. Testis	1
1.1.1. Testis Embriyolojisi	1
1.1.2. Testis Anatomisi	4
1.1.3. Testis Histolojisi	6
1.1.3.1. Seminifer Tübüller	7
1.1.3.1.1. Sertoli Hücreleri	9
1.1.3.1.2. Kan Testis Bariyeri	10
1.1.3.1.3. Spermatogenezis	11
1.1.3.1.3.1. Spermatogonyal Faz (Mitoz)	12
1.1.3.1.3.2. Spermatosit Fazı (Mayoz)	14
1.1.3.1.3.3. Spermatid Fazı (Spermiyogenez)	15
1.1.3.2. İnterstisyel Bağ Doku	16
1.1.3.2.1. Miyoid Hücreler	16
1.1.3.2.2. Leydig Hücreleri	17
1.1.4. Testis Fizyolojisi	18

1.2. Testis Torsiyonu	19
1.2.1. Testis Torsiyonu ve Tipleri	19
1.2.1.1. Ekstravajinal Testis Torsiyonu	20
1.2.1.2. Intravajinal Testis Torsiyonu	20
1.2.2. Torsiyonun Epidemiyoloji ve Etyolojisi	21
1.2.3. Testis Torsiyonunun Klinik Bulguları ve Değerlendirmesi	21
1.2.4. Torsiyonun Sıklığı	22
1.2.5. Torsiyonun Testis Üzerine Etkileri	23
1.2.6. Torsiyonun Fertilite ve Karşı Testis Üzerine Etkileri	25
1.2.7. Testis Torsiyonu ve Tedavi	26
1.2.8. Testis Torsiyonu ve Prognoz	27
1.3. İmmün Sistem	28
1.3.1. İmmün Sistem Organları	28
1.3.1.1. Primer Lenfoid Organlar	29
1.3.1.1.1. Kemik İliği	29
1.3.1.1.2. Timus	30
1.3.1.2. Sekonder Lenfoid Organlar	31
1.3.1.2.1. Lenf Düğümleri	31
1.3.1.2.2. Dalak	32
1.3.1.2.3. Mukoza İle İlişili Lenfoid Doku	32
1.3.2. İmmün Sistem Hücreleri	33
1.3.2.1. Makrofajlar	33
1.3.2.1.1. Testis Makrofajları ve Makrofaj Polarizasyonu	38
1.3.2.2. Lenfositler	46
1.3.2.2.1. B Lenfositler	46
1.3.2.2.2. T Lenfositler	48

1.3.2.2.2.1. Yardımcı T Lenfositler	49
1.3.2.2.2.2. Sitotoksik T Lenfositler	50
1.3.2.2.2.3. Düzenleyici T Lenfositler	50
1.3.2.2.2.4. γ/δ T Lenfositler	51
1.3.2.2.3. Doğal Öldürücü Hücreler	51
1.3.2.2.4. Natural Killer T Hücreleri	52
1.3.2.2.5. Cluster of Differentiation (CD) Markerları	52
1.3.2.3. Antijen Sunucu Hücreler	52
1.3.2.4. Dendritik Hücreler	53
1.3.2.5. Granülositler	54
1.3.2.6. Mast Hücreleri	55
1.3.2.6.1. Testiküler Mast Hücreleri	58
1.3.3. Sitokinler	59
1.3.4. İmmün Yanıt Tipleri	60
1.3.4.1. Doğal İmmünite	61
1.3.4.2. Edinsel İmmünite	61
1.3.4.2.1. Hücrel İmmünite	63
1.3.4.2.2. Humoral İmmünite	63
1.3.5. İmmünolojik Tolerans ve Otoimmünite	63
2. GEREÇ VE YÖNTEM	65
2.1. Deney Hayvanlarının Beslenmeleri ve Barındırılmaları	65
2.2. Deney Grupları ve Uygulamalar	66
2.4. Histolojik Çalışma	67
2.5. Işık Mikroskobu	68
2.5.1. H&E Boyaması	68
2.5.2. Mallory-Azan Boyaması	70

2.5.3. PAS-Hematoksilen Boyaması	70
2.5.4. Seminifer Tübül Çapları ve Germinal Epitel Kalınlıkları	70
2.5.5. Cosentino Skorlaması	71
2.5.6. Johnsen Skorlaması	71
2.5.7. Toluidin Mavisi Boyaması	72
2.6. Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated deoxyuridine triphosphate (dUTP)-biotin nick end-labeling (TUNEL) Metodu	73
2.7. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	73
2.8. Sperm Analizleri	75
2.8.1. Epididimal Sperm Yoğunluğu	75
2.8.2. Spermatozoon Motilitesi	75
2.8.3. Anormal Spermatozoon Oranı	76
2.9. Biyokimyasal Analizler	76
2.9.1. ELISA Analizi	76
2.10. İstatistiksel Analizler	77
3. BULGULAR	78
3.1. Işık Mikroskobu	78
3.1.1. Histopatolojik Değerlendirmeler	78
3.1.2. Seminifer Tübül Çapı ve Germinal Epitel Kalınlıkları	89
3.1.3. Johnsen ve Cosentino Skorlamaları	90
3.1.4. Toluidin Mavisi Boyaması (Mast Hücre Tesbiti)	91
3.2. TUNEL Bulguları	96
3.3. İmmünohistokimyasal Boyamalar	101
3.4. Rölatif Üreme Organ Ağırlıkları	108
3.5. Sperm Analizi	109
3.6. Biyokimyasal Analizler	110

4. TARTIŞMA	112
KAYNAKLAR	122
ÖZ GEÇMİŞ	147



TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Mononükleer fagositik sistem hücrelerinin dağılımı ve ana işlevleri	38
Tablo 2.	Mast hücrelerinden salınan büyük mediatörler	57
Tablo 3.	Ana işlevlerine göre gruplandırılan sitokinler	60
Tablo 4.	Doğal ve edinsel immün yanıtların özellikleri	62
Tablo 5.	Histolojik takip işlem basamakları	68
Tablo 6.	Histolojik takip işlem basamakları	69
Tablo 7.	Çalışmada Kullanılan ELISA Kitlerine ait Bilgiler	77
Tablo 8.	Testis dokusuna ait seminifer tübül çapı ve germinal epitel kalınlığı skorları tablosu	90
Tablo 10.	Mast Hücre Değerlendirmesi	96
Tablo 11.	Apoptotik indeks (%)	97
Tablo 12.	CD 68 ve CD 163 İmmünreaktiviteleri	108
Tablo 13:	Rölatif organ ağırlıkları (gr)	109
Tablo 14.	Sperm Morfolojik Analizi	110
Tablo 15.	Testis Torsiyonunun serum FSH, LH ve Testosteron düzeylerine etkisi	111

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Yaklaşık 40 günlük bir embriyonun abdomeninin enine kesiti.	1
Şekil 2.	A. Erkeklerde dördüncü ayda genital kanallar. B. Testis inişinden sonra genital kanallar görülmektedir	3
Şekil 3.	Skrotum ve testisin transfer kesiti	5
Şekil 4.	Testisin histolojik yapılanması	7
Şekil 5.	Seminifer tübül. Seminifer epitel (SE), soluk spermatogonya	8
Şekil 6.	Testisin histolojik yapısı ve hücrelerinin yerleşim alanları	10
Şekil 7.	Spermatogenezin şematik diyagramı	12
Şekil 8.	İnsan seminifer tübülünde spermatogenezin altı aşamasının şematik diyagramı	14
Şekil 9.	İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri ve miyoid hücreler	17
Şekil 10.	İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri	18
Şekil 11.	Testis torsiyonunun iki tipinin şematik gösterimi: intravajinal ve ekstravajinal torsiyonlar	21
Şekil 12.	T ve B lenfositlerinin karakteristiik bazı yüzey reseptörleri	49
Şekil 13.	(a, c, e) Kontrol grubuna ait sağ ve (b, d, f) sol testis dokusu kesitleri	79
Şekil 14.	(a, b) Sham 4 saat, (c, d, e, f, g, h) Torsiyon 4 saat grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitleri.	81
Şekil 15.	(a, b) Sham 24saat ve (c, d, e, f, g, h) Torsiyon 24 saat grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitleri.	83
Şekil 16.	(a, b) Sham 7 gün ve (c, d, e, f) Torsiyon 7 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitleri.	85

- Şekil 17.** (a, b) Sham 14 gün ve (c, d, e, f) Torsiyon 14 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitleri. 86
- Şekil 18.** (a, b) Kontrol grubu ve (c, d) Sham 7 gün grubuna ait sağ ve sol testis doku kesitlerinde interstisyel alanda normal damar yapıları (kalın siyah ok) izlenmekte. H&E 87
- Şekil 19.** (a, b) Torsiyon 4 saat, (c, d) Torsiyon 24 saat, (e, f) Torsiyon 7 gün ve (g, h) 88
- Şekil 20.** (a, b) Kontrol grubu, (c, d) Sham 4 saat grubu ve (e, f) Torsiyon 4 saat grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde mast hücreleri (siyah kalın ok) izlenmekte. Toluidin mavisi. 92
- Şekil 21.** (a, b) Sham 24 saat grubu ve (c, d) Torsiyon 24 saat grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde mast hücreleri (siyah kalın ok) izlenmekte. Toluidin mavisi. 93
- Şekil 22.** (a, b) Sham 7gün grubu ve (c, d) Torsiyon 7 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde mast hücreleri (siyah kalın ok) izlenmekte. Toluidin mavisi. 94
- Şekil 23.** (a, b) Sham 14 gün grubu ve (c, d, e, f) Torsiyon 14 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde mast hücreleri (siyah kalın ok) izlenmekte. İnterstisyel alan (yıldız). Toluidin mavisi. 95
- Şekil 24.** (a, b) Kontrol grubuna, (c, d) Sham 4 saat grubuna ve (e, f) Torsiyon 4 saat grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde apoptotik hücreler (siyah kalın ok). TUNEL pozitif hücrelerin çekirdekleri kahverengi boyanma göstermektedir. 98
- Şekil 25.** (a, b) Sham 24 saat grubuna, (c, d) Torsiyon 24 saat grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde apoptotik hücreler (siyah kalın ok). TUNEL pozitif hücrelerin çekirdekleri kahverengi boyanma göstermektedir. 99
- Şekil 26.** (a, b) Sham 7 gün grubuna, (c, d) Torsiyon 7 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde apoptotik hücreler (siyah kalın ok).

TUNEL pozitif hücrelerin çekirdekleri kahverengi boyanma göstermektedir. 100

Şekil 27. (a, b) Sham 14 gün grubuna, (c, d) Torsiyon 14 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde apoptotik hücreler (siyah kalın ok). TUNEL pozitif hücrelerin çekirdekleri kahverengi boyanma göstermektedir. 101

Şekil 28. Kontrol grubu sağ ve sol testis dokusunda (a,b) CD 68, (c,d) CD 163 immünreaktivitesi (siyah ok) izlenmekte. 102

Şekil 29. Sağ ve sol testis dokularında (a,b) Sham 4 saat grubu CD 68, (c,d) Torsiyon 4 saat grubu CD 68, (e,f) Sham 4 saat grubu CD 163, (g,h) Torsiyon 4 saat grubu CD 163 immünreaktiviteleri (siyah ok) izlenmekte. 103

Şekil 30. Sağ ve sol testis dokularında (a,b) Sham 24 saat grubu CD 68, (c,d) Torsiyon 24 saat grubu CD 68, (e,f) Sham 24 saat grubu CD 163, (g,h) Torsiyon 24 saat grubu CD 163 immünreaktiviteleri (siyah ok) izlenmekte. 104

Şekil 31. Sağ ve sol testis dokularında (a,b) Sham 7 gün grubu CD 68, (c, d) Torsiyon 7 gün grubu CD 68, (e, f) Sham 7 gün grubu CD 163, (g,h) Torsiyon 7 gün grubu CD 163 immünreaktiviteleri (siyah ok) izlenmekte. 105

Şekil 32. Sağ ve sol testis dokularında (a,b) Sham 14 gün grubu CD 68, (c,d) Torsiyon 14 gün grubu CD 68, (e,f) Sham 14 gün grubu CD 163, (g,h) Torsiyon 14 gün grubu CD 163 immünreaktivitesi (siyah ok) izlenmekte. 106

KISALTMALAR LİSTESİ

ABP	: Androjen Bağlayan Protein
AMH	: Anti-Müllerian Hormon
ASH	: Antijen Sunucu Hücreler
ATP	: Adenozin Trifosfat
CD	: Cluster of Differentiation
CFU-M	: Koloni Oluşturan Birim Monosit
CTL	: Sitotoksik T Lenfositleri
DEHA	: Dehidroepiandrosteron
DH	: Dendritik Hücre
FDH	: Foliküler Dendritik Hücre
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
GEK	: Germinal Epitel Kalınlığı
GER	: Granüllü Endoplazmik Retikulum
HIF	: Hipoksi ile İndüklenebilir Faktör
HIF-1α	: Hipoksi ile İndüklenen Faktör 1-alfa
HLA-II	: Human Lökosit Antijen
IL-1β	: İnterlökin-1 β
IFN-γ	: interferon gama
INSL 3	: İnsülin Benzeri Faktör 3
IRFs	: İnterferon Düzenleyici Faktör
İS	: İnterstisyel Sıvı
JNK	: Endotelyal Hücrelerindeki Sinyal

KTB	: Kan Testis Bariyeri
LEH	: Lenfatik Endotel Hücresi
LH	: Lüteinizan Hormon
LPS	: Lipopolisakkarit
MALT	: Mukozal İlişkili Lenfoid Dokular
MBP	: Majör Bazik Protein
M-CSF	: Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
MH	: Mast Hücreleri
MHC	: Majör-Histokompabilite Kompleksi
MIS	: Müllerian İnhibe Edici Madde
MMP	: Matriks Metaloproteinazları
MPO	: Miyeloperoksidaz
NF-κB	: Nüklear Faktör Kappa B
NKT	: Natural Killer T Hücreleri
PAMPs	: Patogen İlişkili Moleküler Örgüler
PAR2	: Proteinaz ile Aktive Olan Reseptör-2
PMNL	: Polimorfonükleer Lökosit
PTH	: Peritübüler Hücre
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SF1	: Steriogenezis Faktörü 1
SRY	: Cinsiyet Belirleme Bölgesi Y (sex determining region Y)
StAR	: Steroidogenik Akut Düzenleyici Protein
STÇ	: Seminifer Tübül Çapı

TCR	: T Hücre Reseptörleri
TDF	: Testis Belirleyici Faktör
TEC	: Timik Endotelyal Hücreler
TJ	: Tight Junction / Sıkı Bağlantı
TLR	: Toll Like Reseptör
TM	: Testis Makrofajları
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü Alfa
T reg	: Düzenleyici T Lenfositler
TT	: Testis Torsiyonu
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
YEV	: Yüksek Endotelli Venül
cDH	: Konvansiyone Dentritik Hücre
iTM	: İnterstisyel Makrofaj
nT reg hücreleri	: Doğal T reg Hücreleri
pDH	: Plazmasitoid Dentritik Hücre
Ptm	: Peritübüler Makrofaj

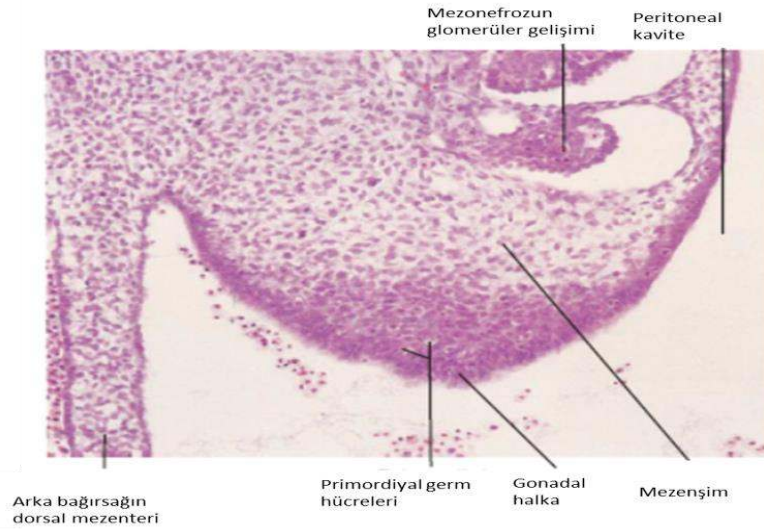
1. GİRİŞ

1.1. Testis

1.1.1. Testis Embriyolojisi

Embriyonun kromozomal cinsiyeti fertilizasyon esnasında belirlenir. Ancak gelişimin 7. haftasından sonra gonadlar dişi ya da erkek olarak farklanır. Bu zamana kadar her iki cinsten de gelişim aynıdır ve bu dönem farklanmamış dönem olarak bilinir. Cinsiyet farklanması çok sayıda genin rol oynadığı kompleks bir süreci kapsar. Y kromozomunun kısa kolu üzerinde yer alan cinsiyet belirleme bölgesi Y (**sex determining region Y/ SRY**) geninin protein ürünü olan testis belirleyici faktör (TDF) fetüsün erkek yönünde gelişmesini sağlar.

Gonadlar ilk önce bir çift genital veya gonadal kabartı olarak ortaya çıkarlar. 6. haftaya kadar genital kabartılarda germ hücreleri bulunur (Şekil 1). Epiblast kökenli primordiyal germ hücreleri, primitif çizgi boyunca ilerler 3. haftada yolk kesesine yerleşir. 6. haftada ise genital kabartıları işgal ederler (1, 2).

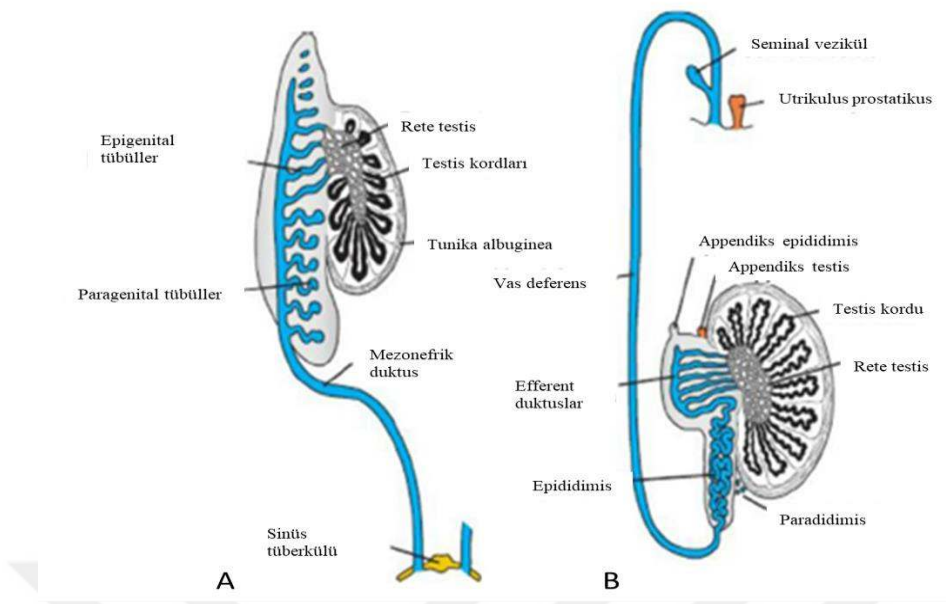


Şekil 1. Yaklaşık 40 günlük bir embriyonun abdomeninin enine kesiti. Testis veya ovaryum olarak gelişecek olan gonadal kabartıyı gösteren fotomikrograf. Gelişmekte olan gonadın çoğunluğu, gonadal kabartının çöломik epitelinden köken alan mezenkimden oluşur. Gonad içindeki büyük yuvarlak hücreler, primordiyal germ hücreleridir (3).

Genital kabartıda bulunan epitel hücreleri proliferatif olarak primitif cinsiyet kordonlarını oluştururlar. Bu evredeki gonad farklılaşmamış gonad olarak adlandırılır (2). Primitif cinsiyet kordonları SRY geninin proliferatif etkisiyle çoğalarak medullanın derinliklerine doğru testis veya medulla kordonlarını oluşturmak üzere ilerler. Bu kordonlar daha sonra rete testis adı verilen hücre kordonlarından meydana gelmiş ağ yapısı oluşturarak ilerler. Primitif cinsiyet kordonları, SRY geninin proliferatif etkisiyle çoğalarak medullanın derinliklerine doğru ilerleyerek testis/medulla kordonlarını oluşturur. Bu kordonlar daha sonra rete testis adı verilen ağ yapısını oluşturarak ilerler. Böylece testis kordonları 4. ayda atnalı şeklini alır ve açık uçları rete testisle devamlılık gösterir. TDF varlığında kısa sürede cinsiyet kordonlarının somatik hücrelerinden Sertoli hücreleri farklılaşır. Testis kordonları artık primitif germ hücrelerini ve Sertoli hücrelerini barındırır. Farklanmamış evrede her iki cinsiyette de mezonefrik (Wolff) kanalları ve paramezonefrik (Müller) kanalları adı verilen iki çift kanal vardır. Erkek embriyolarda genital kanallar testosteron uyarısıyla gelişmeye başlar. Erkeklerde Sertoli hücreleri tarafından üretilen Anti-Müllerian hormonun (AMH; Müllerian inhibe edici madde (MIS) olarak da bilinir) etkisiyle paramezonefrik kanallar appendiks testis dışında dejenerasyon olurlar (1).

Fetal Leydig hücreleri ve endotel hücreleri gonadların içine göç eder ve 8. haftada testosteron üretmeye başlarlar (4). Bu testosteron üretimiyle beraber genital kanal ve dış genital organların cinsiyeti belirlemeye başlar.

Testis kordonları puberteye kadar solid kalırlar. Puberteyle beraber bu kordonların kanalları açılır ve seminifer tübüllere dönüşürler. Kanalize hale gelmiş seminifer tübüller rete testis tübülleriyle birleşip duktali efferentlere girerler. Daha sonra duktus deferenslerle bağlantı kurarlar (Şekil 2).



Şekil 2. A. Erkeklerde dördüncü ayda genital kanallar. **B.** Testis inişinden sonra genital kanallar görülmektedir (1).

SRY ve otozomal dominant SOX9 geni testis farklılaşmasından sorumlu genlerdir. SOX9 AMH geninin promoter bölgesine bağlanır ve ekspresyonunu kontrol eder. SRY ve/veya SOX9 testisten, FGF9 salgılatmaktadır. FGF9, mezonefrik kanal ve tübüllerin genital sırtı penetre etmesini sağlar.

SRY steriodegenesis faktörü 1'in (SF1) yapımını teşvik etmektedir. SF1 Leydig hücrelerinden testosteron salgılatır. Salgılanan testosteron mezonefrik kanalların diferansiyasyonunu sağlar. Hedef doku hücrelerine giren testosteron kendi etkilerinin yanı sıra 5α -redüktaz enzimi ile dihidrotestosterona dönüşebilir. Dihidrotestosteron ise erkek dış genital sisteminin gelişimine neden olur. Salgılanan testosteron mezonefrik kanalların diferansiyasyonunu sağlar. Fetal testislerden salınan androjenlerin etkisiyle erkek dış genital organlar gelişir. Fallus adı verilen genital tüberkül hızla uzayarak dış genital gelişimini tamamlar.

Testisler karın içerisinde retroperitoneal olarak oluşup, inguinal kanaldan geçerek skrotuma yerleşir. Normalde testisler 12. haftada inguinal bölgeye, 33. haftada ise skrotuma ulaşır. Bu iniş androjenler gibi hormonların kontrolleri altında gerçekleşir (1).

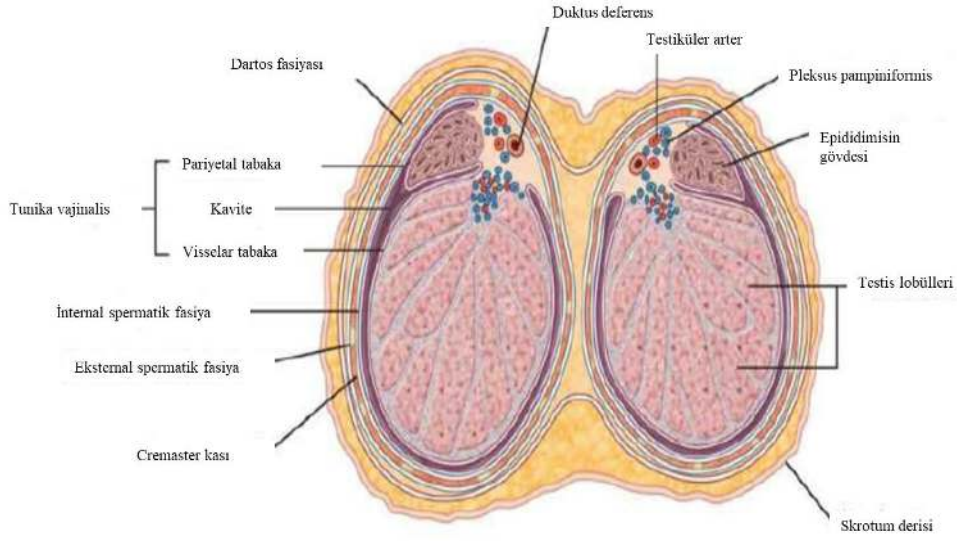
1.1.2. Testis Anatomisi

Testis erkek üreme sisteminde üreme hücrelerini (spermatozoon) barındıran ve geliştiren iç genital organlara dâhil bir çift esas üreme organıdır. Testisler, perinede skrotum adı verilen torbanın içinde üst ucu öne ve dışa, alt ucu arkaya ve içe dönük oblik pozisyonda funikulus spermatikusa asılı olarak bulunurlar. Funikulus spermatikus, testise girip çıkan damarları, sinirleri ve duktus deferens'i taşıyan bir kordondur.

Sol testis kan stazı nedeniyle sağ testisten daha ağırdır, bu nedenle sol testis skrotum içerisinde sağ testisten 1cm daha aşağıda yer alır. Her bir testis, arka-iç yan bölümü hariç periton (epiorchium) ile sarılıdır. Testisin peritonsuz bölümünden damar ve sinirler geçer (5).

Testisin esas parankim yapısı üç örtü ile sarılıdır. Örtüler dıştan içe doğru epiorchium, tunika albuginea ve tunika vasküloza'dır (6). Testisler parietal peritondan oluşan tunika vaginalis'in visseral yaprağını alarak aşağı iner. İşte bu yapıya epiorchium adı verilir. Tunika vaginalis'in visseral ve parietal yaprağı arasında cavum vaginale adı verilen boşluk bulunur. Epiorchium'un altında tunika albuginea denilen kalın fibröz örtü bulunur. Tunika albuginea, testisi birçok fibröz bölme (septula testis) ile piramidal şekilli 250-300 lobçuğa (lobuli testis) ayırır. Tunika albuginea'nın altında tunika vasküloza bulunur ve bu tabaka testis parankimi ile temas halindedir (5, 6).

Testis parankimi lobuluslardan oluşur (Şekil 3). Testiste her lobulus içinde 1-4 adet bez yapılı borucuk (tubuli seminiferi) bulunur. Tubuli seminiferilerin arasında gevşek bağ dokusu bulunur. Bu bağ dokusuna interstitium testis denilir. İntestitium testiste Leydig hücreleri yer alır. Leydig hücreleri testosteron ve androstenedion salgılar (5).



Şekil 3. Skrotum ve testisin transfer kesiti (7). (Orjinalinden uyarlanmıştır)

Seminifer tubulusların duvarı bazal membrana oturmuş halde Sertoli hücreleri ve spermatozoaya dönüşen germinal hücreler ile döşelidir (5, 8). Sertoli hücreleri, tabanları bazal laminaya oturmuş, apikal uçları seminifer kanal lümenine bakan seminifer tübül içerisindeki hücreler arasında en büyüğüdür (5). Spermatogenezis gonodotropik hormonların uyarısıyla 13-14 yaşlarında seminifer tübüller içerisinde oluşmaya başlar. (5, 8). Germinal veya spermatogenik hücreler bazal membrandan itibaren 4-8 tabaka şeklinde dizilmiştir. Bu tabakalar spermatogenezin çeşitli aşamalarını temsil eder (5).

Spermatogenezin tam döngüsü, spermin olgunlaşması ve epididimden geçmesi yaklaşık 74 gün sürer. İnsan testisinde günde yaklaşık 300 milyon sperm hücresi üretilir (8). Spermatogenezis testisler skrotum içinde olduğu sürece devam eder (5).

Arteria testikularis aorta abdominalisden köken alır. Anulus inguinalis profundus'tan geçen a. testikularis funikulus spermatikusa dâhil olur. A. testikularis, mediastinum posteriorda birçok dala ayrılır ve septula testisleri izleyerek dağılırlar.

Testisin venleri önce plexus pampiniformis'i oluşturur. Bu plexustan çıkan iki ven daha sonra birleşerek v. testikularis'i oluşturur. Vena testiskularis sağda v. cava inferior'a, solda v. renalis'e dökülür.

Testisin lenfatikleri funikulus spermatikus içinde nodi paraaortici'e ulaşır (5, 6).

Epididimis, testislerin arka üst bölümlerinde yerleşmiş, üst bölümü geniştir ve kaput diye adlandırılır, diğer bölümleri giderek daralır korpus ve kauda olarak isimlendirilir. Epididim bir kanal sisteminden oluşmaktadır ve bu kanal sistemi yaklaşık 7 metredir (5). Testisler, spermatozoonları rete testislere (düz tübüller) ve epididimin efferent kanallarına boşaltır (8). Epididimin en önemli görevi ise spermleri depolamak ve mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte spermlere ovumu dölleme yeteneği kazandırmasıdır. Bu mekanizmalar erkek genital sisteminin esas amacı olan fertilite için önemlidir (5).

1.1.3. Testis Histolojisi

Embriyonik gelişim, seksüel olgunlaşma ve üreme fonksiyonları üzerinde etkili olan testisler ekzokrin fonksiyonuyla sperm üretiminin yanısıra sahip olduğu endokrin hücrelerle, testosteron gibi hormonların salınımını yapan bir çift organdır (9, 10).

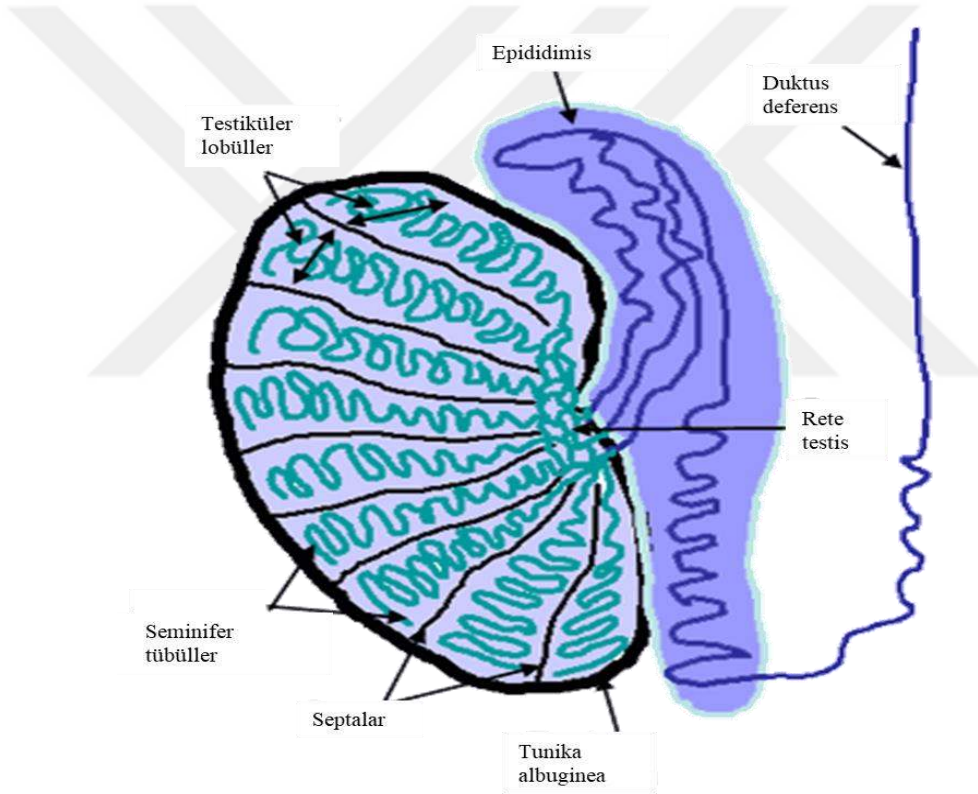
Testislerden salınan androjenler fetusun erkek yönde gelişimi için çok önemliyken pubertede salınan androjenlerden olan testosteron spermiyum üretiminin başlaması ve sekonder seks karakterlerinin gelişimi için büyük önem taşımaktadır. Yaşamın ilerleyen dönemlerinde de spermiyum üretiminin devam etmesi, sekonder seks karakterlerinin korunması ve yardımcı bezlerin fonksiyonları testisle birebir ilişkilidir (10).

Testislerin her ikisi de tunika albuginea olarak adlandırılan bir kapsülle sarılıdır (9). Tunika albuginea yoğun fibroelastik yapıda bir bağ dokusu tabakasıdır (10). Tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşır ve mediastinum testis denilen fibröz bir yapı oluşturur. Fibröz yapı, testis içerisine ilerleyerek yaklaşık 250 tane testis lobülü oluşturur. Her bir lobülde gevşek bağ dokusu ile beraber interstisyel hücreler (Leydig hücreleri) ve seminifer tübüller bulunur. Her

bir lobülde 1 ile 4 arasında kıvrıntılı seminifer tübüller bulunur. Seminifer tübüller sperm üretimini sağlamaktadır (9).

Testis dokusunu tunika albugineanın hemen altında birebir saran tabaka; tunika vaskülozadır ve damardan zengin gevşek bağ dokusu özelliğindedir (10).

Embriyonik karın boşluğunun arka duvarında retroperitoneal olarak gelişen testisler, ilerleyen fetal dönemde göç ederler ve spermatik kordların uçlarında asılı halde skrotumun içine yerleşirler. Bu göç sırasında her bir testisi peritondan gelişmiş seröz bir kese olan tunika vaginalis sarar. Tunika vaginalis, pariyetal ve visseral tabaka olmak üzere iki tabakadan oluşmaktadır (9). Testisin anterolateral yüzünü kaplayan bu tabaka ise mezotel ile döşelidir (10).

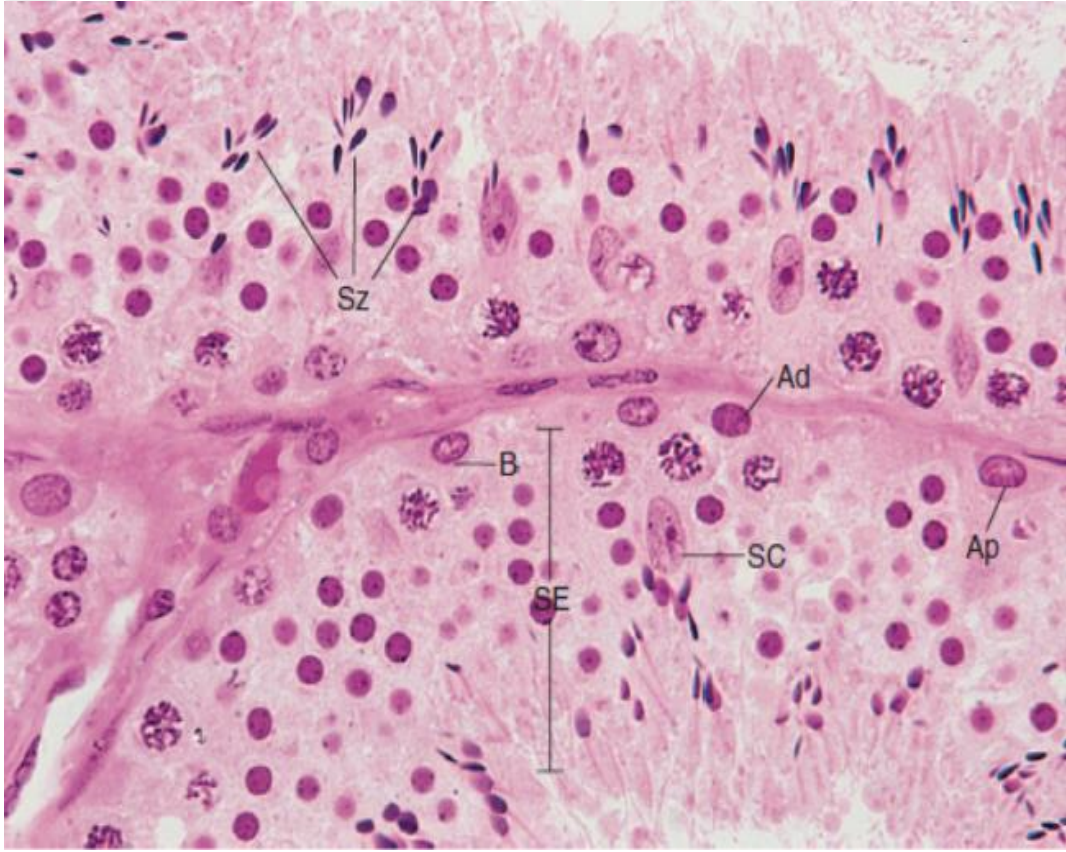


Şekil 4. Testisin histolojik yapılanması (11).

1.1.3.1. Seminifer Tübüller

Seminifer tübüller testis hacminin büyük bölümünü oluşturan kıvrımlı seyreden kanallardır (10). Bu tübüllerde günde ortalama 2×10^8 sperm üretilir (9). Seminifer tübülleri germinal epitel ya da seminifer epitel olarak isimlendirilen çok

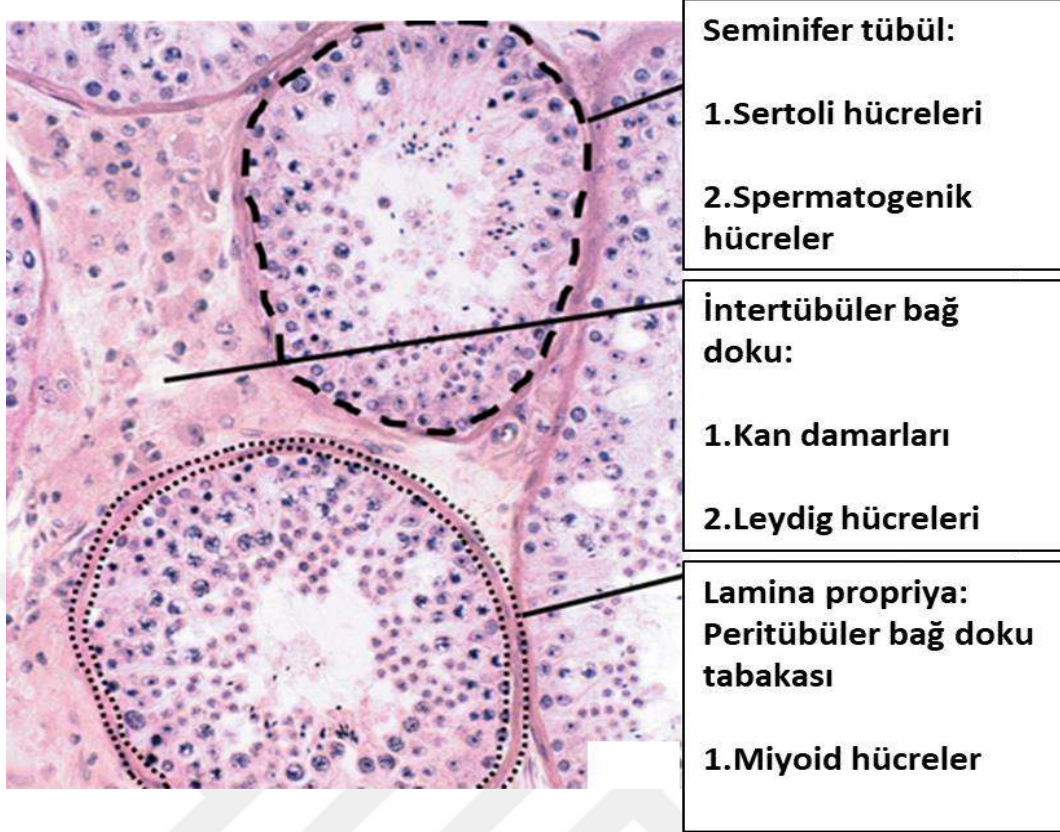
katlı bir epitel döşer (10). Germinal epiteli iki tip hücre oluşturur; bu hücreler, bölünmeyen büyük Sertoli hücreleri ve bölünebilen spermatogenik seri hücreleridir (Şekil 5). Spermatogenik seri hücreleri dört ile sekiz arasında kümelenmiş hücre katmanıdır (9). Sertoli hücrelerinin bazal hücre zarı, folikül uyarıcı hormon (FSH) ve androjenler için reseptörlere sahiptir (12). Seminifer epitelin altında yer alan tunika propriya özel bir bağ dokusudur. Seminifer epitelin bazal membranının altındaki bu tabaka fibroblast içermezken, miyoid hücreler ve kollajen lifleri içerir. Bu yapı peritübüler doku olarak adlandırılır. Bu tabakadaki hücrelerin kontraksiyon ile tübül lümenindeki olgun spermiyumları kanala iletmek ve bağ dokunun kollajen liflerini sentezlemek gibi görevleri vardır. Kemiricilerde bu tabaka tek sıra yassı miyoid hücre tabakası şeklindedir (10).



Şekil 5. Seminifer tübül. Seminifer epitel (SE), soluk spermatogonya A (Ap), koyu spermatogonya A (Ad), spermatogonya B (B), Sertoli hücresi (SC), ve spermatozoa (Sz) (12).

1.1.3.1.1. Sertoli Hücreleri

Dördüncü ayda, testis kordonlarında bezin yüzey epitelinden gelişen Sertoli destek hücreleri belirginleşir (1). Sertoli hücreleri bazal membrandan başlayıp lümeneye doğru uzanan hayalet görünümünde prizmatik veya piramidal hücrelerdir (Şekil 6) (9, 10). Bu hücrelerin spermiyumları destekleme, besleme, koruma ve gelişimini tamamlayamamış spermiyumları fagosite etme gibi görevleri vardır. Sertoli hücreleri organelden zengin hücrelerdir (Şekil 5). Sitoplazmalarının bazal kısımlarında Charcot- Böttcher cisimlerini barındırırlar. Bu cisimler ışık mikroskobu düzeyinde de gözlenebilen fuziform şekilli inklüzyonlardır (10). Spermatogenik seri hücreleri birbiri üzerine sıralanmış farklı gelişim aşamasında olan hücrelerdir ve bu hücreler Sertoli hücrelerinden metabolik ve fiziksel destek alırlar. Testisteki spermatogenik seri hücreleri kan-testis bariyeri ile izole oldukları için beslenmelerinde ve atık maddelerin uzaklaştırılmasında başlıca Sertoli hücreleri görevlidir. Sertoli hücreleri testisten sentezlenen sperm hücrelerini tübüllere taşımak için bir sıvı salgılar. Testosteronun konsantrasyonunu belirleyen androjen bağlayan protein (ABP), FSH'nin negatif feedbackini sağlayan inhibin, Müller kanallarının gerilemesini sağlayan AMH sentezi ile endokrin fonksiyonlarını gerçekleştirir. Sertoli hücreleri spermiyogenezde meydana gelen sitoplazmik atıkları fagosite ederek tübüler ortamın homeostazını da sağlamaktadır (9, 10).



Şekil 6. Testisin histolojik yapısı ve hücrelerinin yerleşim alanları (13).

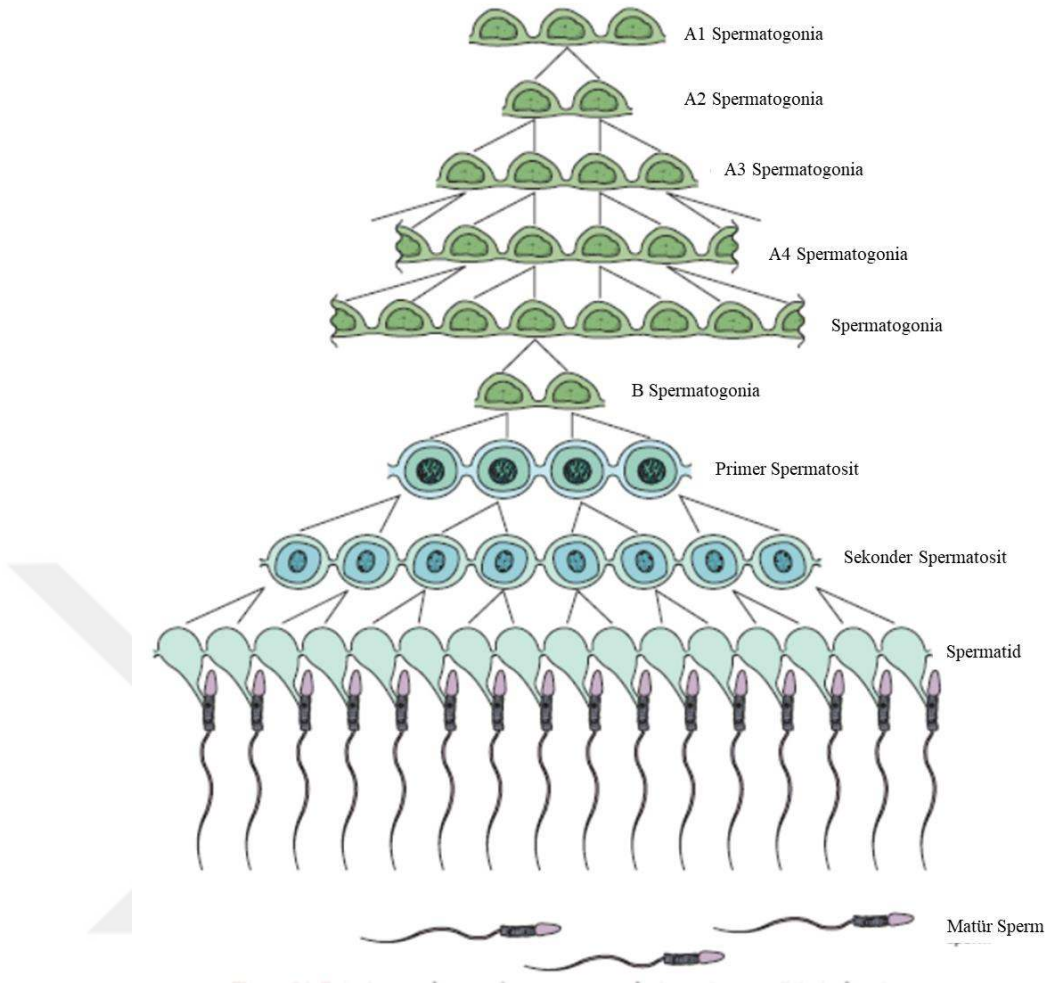
1.1.3.1.2. Kan Testis Bariyeri

Memelilerde kan-testis bariyeri, bazal membranın yakınındaki seminifer epitelde yer alan bitişik Sertoli hücreleri tarafından oluşturulan özel sıkı bağlantılar (tight junction-TJ), bazal ektoplazmik uzantılar (testise özgü atipik adherens junction tipi bağlantı birimi) ve desmozom benzeri bağlantı birimleri ile oluşturulur (14). Sertoli hücreleri, bazolateral hücre zarları arasında sıkı bağlantılar (TJ) oluşturur (9). Birbirine komşu Sertoli hücreleri zonula okludens denilen 50 ‘den fazla bağlantı türü oluşturur. Ayrıca Sertoli hücreleri arasında gap junction tipi bağlantı birimleri, Sertoli hücreleri ile erken dönem spermatogenetik seri hücreler arasında desmozomal bağlantılar bulunurken Sertoli hücreleri ile bazal lamina arasında hemidesmozomlar bulunur. Bu bağlantı birimleri arasına spermatogenetik hücreler yerleşir ve bu oluşan düzenli yapılanma aynı zamanda kan-testis bariyerini oluşturur (9, 10). Testis yapısının çoğunu oluşturan seminifer tübüllerin iyon, aminoasit, karbonhidrat ve protein içeriği kan ve lenfin

içeriğinden farklıdır. Bu farklılığı sağlayan da kan-testis bariyeridir. Bu bariyer germ hücrelerini gelebilecek zararlı maddelere karşı da korur. Daha da önemlisi germ hücreleri (sekonder spermatosit, spermatid ve spermiyumlar) haploid yani genetik olarak farklı yapıdadır ve immün sistem tarafından antijen olarak kabul edilir. Kan-testis bariyeri immün sistemden germ hücrelerini korumakla görevli oluşumdur (10).

1.1.3.1.3. Spermatogenezis

Spermatogenez, seminifer tübüllerde meydana gelen ve olgun erkek gameti olan spermin üretilmesiyle sonuçlanan karmaşık bir süreçtir (9). Kalın seminifer tübül epitelini oluşturan hücrelerin çoğu, çeşitli olgunlaşma aşamalarındaki spermatogenik seri hücreleridir (12). Spermatogenez, ergenlik döneminde kök hücre ve progenitör hücre olan spermatogonyumların proliferasyonu ile başlangıç gösterir (Şekil 7) (9). Spermatogonyum proliferasyonu; spermatositlere farklılaşma, spermatid üreten spermatositlerin mayoz bölünmesi, yuvarlak spermatidlerin olgunlaşması ve olgun spermlerin testis tübül lümenine salınması bu süreci kapsar (15). Tüm spermatogenik süreç yaklaşık 74 gün sürmektedir (16).



Şekil 7. Spermatogenezin şematik diyagramı (12).

1.1.3.1.3.1. Spermatogonyal Faz (Mitoz)

Spermatogonyumlar bazal membranın hemen üzerinde ve Sertoli hücreleri ile direk temas halinde olan küçük, yuvarlak hücrelerdir (9). Bazal kompartmanda kan-testis bariyerinin altında bulunurlar. Spermatogonyumlar, daha fazla spermatogonya oluşturmak için mitoz bölünmeye giren diploid hücreler iken, primer spermatositler bazaldan adluminal bölmeye göç ederler. Primer spermatositler, sekonder spermatositleri oluşturmak için ilk mayoz bölünmeye girer, daha sonra ikinci mayoz bölünmeyle haploid spermatidleri oluştururlar (Şekil 7). Bu haploid hücreler; sitoplazmalarının azalması, organellerinin yeniden düzenlenmesi ve flagella oluşumunun ardından olgun sperm haline dönüşürler (12).

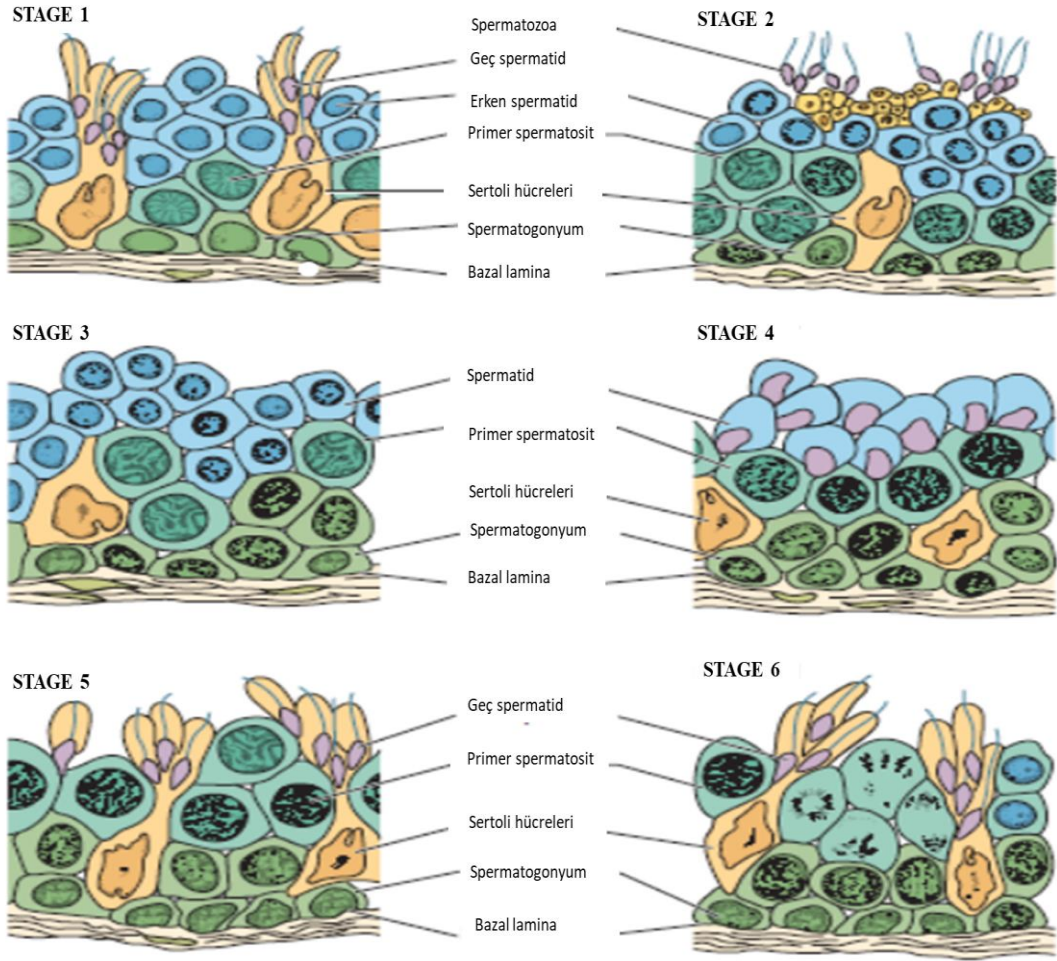
Spermatogenez denilen bu hücre olgunlaşma sürecinden çeşitli hücre tipleri oluşmaktadır (Şekil 7). Olgunlaşma süreci üç aşamaya ayrılmıştır; spermatogonyumların primer spermatositlere farklandığı spermatositogenezis, diploid primer spermatositlerin haploid spermatidleri oluşturmak için indirgendiği mayoz bölünme, spermatidlerin spermatozoa (sperm)'ya dönüştüğü spermiyogenez aşaması (9, 12).

Spermatogonyum; Seminifer tübüllerin bazalinde bulunan küçük, diploid germ hücreleridir. Bu hücrelerin aktivitesinde testosteron görevlidir.

Spermatogonyumlar üçe ayrılır:

- a) **Koyu tip A spermatogonyumlar:** Yoğun, oval çekirdekli, heterokromatik, küçük, kubbe şeklindeki hücrelerdir. Koyu tip A spermatogonyum, hücre döngüsüne girmemiş ancak sonrasında döngüye girebilen yedek hücrelerdir. Mitotik hızları yavaş olan hücrelerdir. Mitoz sonrası, koyu tip A spermatogonyumlar ek olarak açık tip A spermatogonyumları oluştururlar.
- b) **Açık tip A spermatogonyumlar:** Koyu tip A hücreleriyle aynıdır, fakat çekirdekleri ökromatik olması nedeniyle soluk ve ovaldir. Bu hücreler, testosteron uyarımıyla ardışık mitoz bölünmeler geçirerek açık tip A spermatogonyum sayısını arttırmaya çalışırlar. Bu oluşan hücreler, sperm oluşumuna kadar giden farklılaşma sürecine yönlendirilmişlerdir.
- c) **B tipi spermatogonyum:** Açık tip A spermatogonyumlara benzerler, fakat çekirdekleri yuvarlaktır. Bu hücreler mitozla primer spermatositlere dönüşürler. İyonize radyasyona karşı en duyarlı hücre grubunu oluştururlar (12).

Primer spermatositler oluşur oluşmaz, bazal kompartmandan adluminal kompartmana göç ederler (Şekil 8). Bu hücreler bitişik Sertoli hücreleri arasında göçerken Sertoli hücreleri ile zonula okludens bağlantıları oluştururlar ve kan-testis bariyerinin bütünlüğüne katkı sağlarlar (9).



Şekil 8. İnsan seminifer tübülünde spermatogenezin altı aşamasının şematik diyagramı (17).

1.1.3.1.3.2. Spermatosit Fazı (Mayoz)

Primer spermatositler, seminifer epitelin en büyük hücreleridir. Bu hücrelerin ilk mayoz bölünmesi sonucunda kromozom sayısı haploide indirgenir. Daha sonra ikinci mayozunu geçirir ve haploid kromozomla devam ederler. Sekonder spermatositler görece küçük hücrelerdir ve seminifer epitelde bulunma süresi 10 saatten daha az olduğu için sürekli gözlenememektedir. $2n$ DNA içeren bu hücreler, kromozomlarını kopyalayamazlar, hızlı bir şekilde ikinci mayoz bölünmeye girerek iki tane haploid ($1n$ DNA) spermatidi oluştururlar. Herbir hücre iki hücre oluşturmak için bölündüğünde, aralarında sitoplazmik köprüler oluşur ve bu şekilde yeni oluşan hücreler birbirleriyle bağlantılı olur. Bir dizi mitotik ve mayotik olayda meydana gelen bu kısmi bölünme, birbiri ile ilişkili çok

sayıda spermatid olan bir hücre sinsityumu oluşumuyla sonuçlanır. Bu bağlantı, spermatojenik hücrelerin birbirleriyle iletişim kurmasını ve böylece faaliyetlerini senkronize etmesini sağlar (12).

1.1.3.1.3.3. Spermatid Fazı (Spermiyogenez)

Spermatidler küçük, yuvarlak haploid hücrelerdir. Tek bir açık tip A spermatogonyumun soyu olan spermatidlerin tümü birbirine sitoplazmik köprülerle bağlanır (Şekil 8). Küçük kümeler oluşturur ve seminifer tübülün lümenine yakın bir pozisyonda bulunurlar. Bu hücreler bol miktarda granüllü endoplazmik retikulum (GER), çok sayıda mitokondri ve iyi gelişmiş bir golgi kompleksine sahiptir. Spermatozoaya dönüşümleri sırasında, hidrolitik enzimleri biriktirirler, organellerinin sayısını yeniden düzenler, flagella ve ilişkili iskelet aparatları oluştururlar ve sitoplazmalarını azaltırlar (12).

Spermiyogenez süreci dört aşamaya ayrılmıştır:

Golgi Fazı: Bu dönemde spermatidlerin sitoplazması, çekirdeğe yakın belirgin Golgi kompleksi, mitokondriler, bir çift sentriyol ve serbest ribozomlar bulundurulur. Golgi kompleksinden gelen proakrozomal veziküller, birleşirler ve çekirdeğin bir ucuna yakın konumda tek katlı zarla sarılı akrozomal başlığı (kep) oluştururlar. Sentriyoller ise akrozomal başlıktan en uzak noktaya göç ederler. Bu sentriyollerden bir tanesi bazal cisimcik olarak hareket ederek yapısal ve işlevsel olarak silyumda bulunan benzer şekilde flagella aksonemini oluşturmaya başlar (9, 10).

Kep Fazı: Akrozomal başlık, yoğunlaşan çekirdeğin yarısını kaplayacak şekilde yayılır. Akrozom, başlıca hiyalüronidaz ve tripsin benzeri proteaz olan akrosin gibi hidrolitik enzimler içeren özelleşmiş lizozomal bir yapıdır. Bu enzimler spermatozoon oositle karşılaşınca salınır ve akrozomun dış zarı spermatozoonun hücre zarı ile kaynaşır. Bu enzimler, oositlerin çevresinde bulunan korona radyata hücrelerini birbirinden ayırır ve zona pellusidayı eritir. Böylece döllenmenin ilk basamaklarından olan akrozomal reaksiyon gelişmiş olur (9, 12).

Akrozomal Faz: Gelişen spermin akrozom ve yoğunlaşmış çekirdek içeren başı, Sertoli hücresinin içinde gömülü kalır, bu sırada gelişen aksonem,

tübülün lümenine uzanır. Hücre çekirdeği yüksek oranda yoğunlaşır ve uzar, nükleozomların histon proteinleri küçük bazik peptidler olan protaminler ile yer değiştirir. Flagellum kuyruk olarak devam eder. Flagellumun proksimalinde ise mitokondriyumların birikmesiyle oluşan kalınlaşma orta parça adı verilen bölgeyi oluşur. Bu bölgede, flagellum hareketi için gerekli olan Adenozin trifosfat (ATP) üretilir.

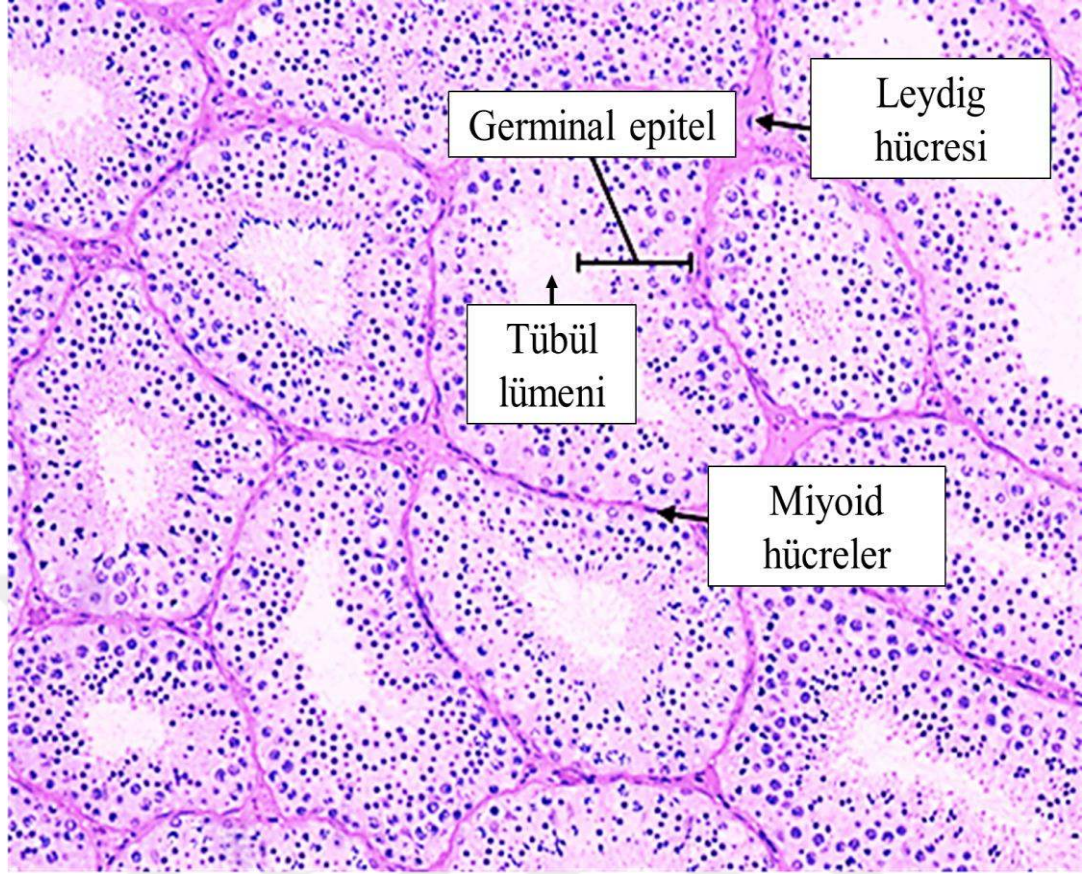
Olgunlaşma Fazı: Spermiyogenezin olgunlaşma fazında, spermatozoondan geriye kalan sitoplazma artık cisim olarak atılır ve hücreler arası köprüler kaybolur. Artık bu aşamadan sonra spermatozoonlar olgun ancak işlevsiz veya hareketsiz olarak tübül lümenine bırakılırlar (9, 12).

1.1.3.2. İnterstisyel Bağ Doku

Seminifer tübüller arasında bulunan gevşek bağ dokudur. Bu alan majör olarak fibroblast, lenf damarı ve kapillerlerden oluşur. Miyoid hücreler ve Leydig hücreleri bu bölgenin ana hücreleridir (9).

1.1.3.2.1. Miyoid Hücreler

İnsanda testis seminifer tübül bazal laminasının etrafında üç beş sıra dizilmiş peritübüler kontraktıl hücreler (miyoid hücreler) ve kollajen lifler bulunur (Şekil 9). Bu peritübüler doku fibroblast içermez. Miyoid hücrelerin bolca kollajen sentezleme özelliği bulunmaktadır. Miyoid hücreler içerdikleri aktin flamanlar ile ritmik kasılmalar gerçekleştirirler. Bu ritmik kasılmalar sayesinde testiküler sıvı ve spermatozoonların seminifer tübüllerden ilerlemesini sağlayan peristaltik dalgalar oluşur. Spermiler epididimisi geçene kadar motilite yeteneğine sahip değildirler sadece tübüller peristaltik kasılmalarla ilerlerler (18).

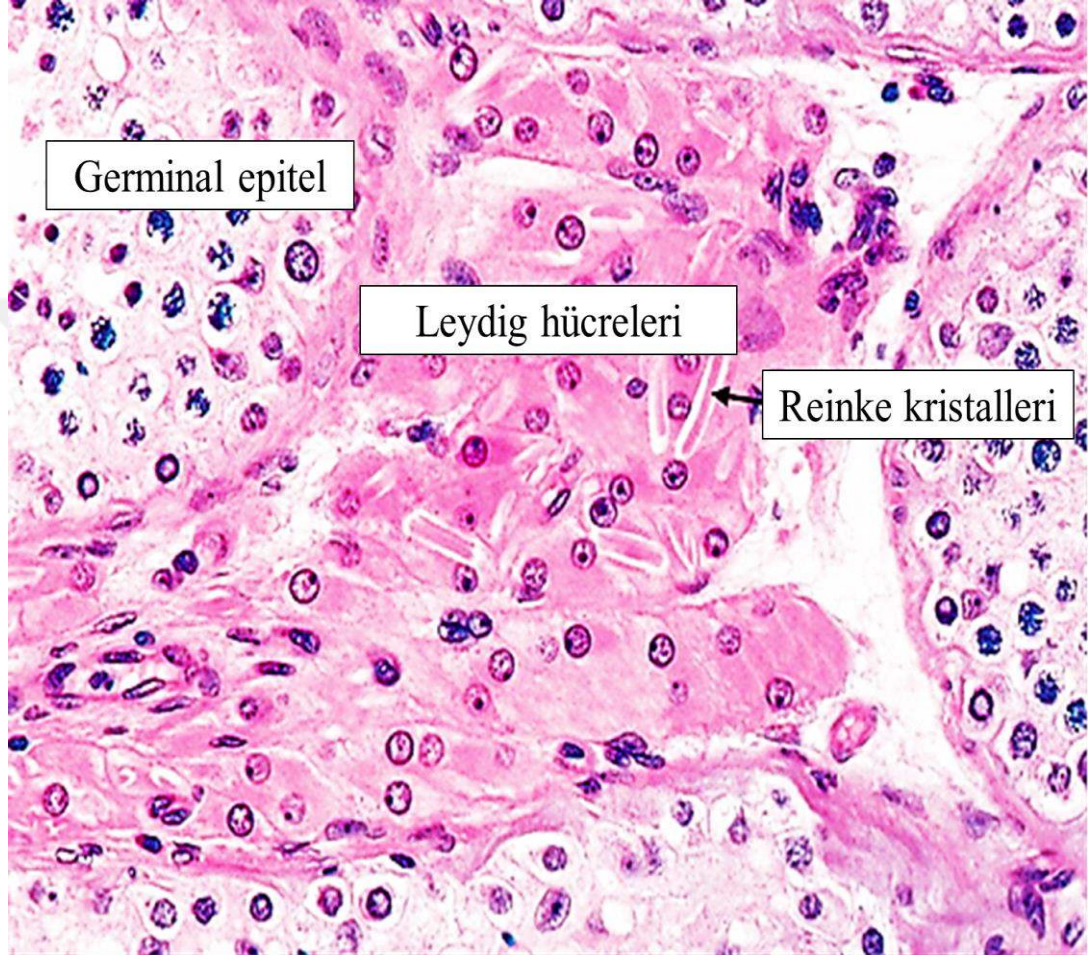


Şekil 9. İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri ve miyoid hücreler (19).

1.1.3.2.2. Leydig Hücreleri

İntersitisyel alanda tek tek veya gruplar halinde bulunur, interstisyel hücreler olarak da adlandırılırlar (10, 12). Yuvarlak veya poligonal şekilli, yuvarlak nükleuslu, asidofil sitoplazmalı hücrelerdir. Sitoplazmalarında çok sayıda lipid damlaları bulundurulur. Steroid sentezi yapan hücrelerde olduğu gibi Leydig hücre sitoplazması da yaygın agranüler endoplazmik retikuluma sahiptir. Sitoplazmasında ayrıca lipofuksin pigmenti, mitokondriyon ve Reinke kristalleri (çubuk şeklinde inklüzyon) (Şekil 10) gözlenebilir (10). Bu hücreler testosteron ve insülin benzeri faktör 3 (INSL 3) sentezi yaparlar. Testosteron, sekonder erkek cinsiyet özelliklerinin oluşumunu destekler. INSL 3 ise fetal yaşamda testislerin skrotuma inmesini kolaylaştırır. Ergenlik döneminde ve erişkinde INSL 3, Leydig hücreleri tarafından testosteron salınımını artırır ve spermatogenik hücrelerin devamlılığını sağlar (12). Ergenlik döneminde, hipotalamik gonadotropin

salgılayıcı hormon üretimiyle testosteron salgısı başlar. Geç embriyonik dönemde, plasental gonadotropinler testosteron salgılatarak erkek üreme sistemi kanal ve bezlerini geliştirir (9). Erişkinde ise spermatogenez, bezlerin sekresyon aktivitesi ve sekonder seks karakterlerinin devamı için gereklidir (10).



Şekil 10. İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri (19).

1.1.4. Testis Fizyolojisi

Fetal Leydig hücreleri gebeliğin 8 ve 18. haftalarında steroidogenik olarak aktiftir. 18. gebelik haftasından itibaren testiste baskın hücre grubu Leydig hücreleridir. Leydig hücrelerinden salınan androjenler erkek üreme sisteminin gelişimi için önemli role sahiptir. Doğum sonrası 2 ile 3 aylık dönemde testiste steroidogenez yüksek miktardadır ve daha sonra azalır. Pubertal dönemde

Lüteinizan hormon (LH) artışı androjen sentezini tekrar aktive eder. Prolaktin LH reseptörü gen ekspresyonunu düzenler, bu aracılıkla Leydig hücre fonksiyonunu etkileyerek testosteron üretimini de düzenlemektedir.

Testosteron sentezi, kolesterolün hücreye girişiyle başlar. Kolesterol, yağ damlacıklarıyla steroidogenik akut düzenleyici protein (StAR) ile mitokondriyonlara taşınır ve çeşitli biyokimyasal sentez basamaklarından geçerek pregnenolon oluşur. Pregnenolon progesterona ve o da testosterona dönüşür. Ayrıca Leydig hücreleri dehidroepiandrosteron (DEHA) ve androstenedion sentezlemektedir.

FSH ve LH sırasıyla Sertoli ve Leydig hücrelerinin fonksiyonunu düzenler. FSH, Sertoli hücrelerinden inhibin ve aktivin üretimini başlatır. FSH, Sertoli hücrelerinden androjen-bağlayıcı protein (ABP) salgılatır. ABP- androjen kompleksi spermatogenik hücreler için yoğun androjenik çevre sağlar. Erişkinde Sertoli hücreleri; inhibin, aktivin ve ABP sentezlerken, fetal Sertoli hücreleri Müllerian inhibe edici madde (MIS) sentezler.

Testosteronun, seminal vezikülün fonksiyonları üzerinde belirgin etkisi vardır ve testosteron LH salınımı üzerine negatif feedback yapar (20).

1.2. Testis Torsiyonu

1.2.1. Testis Torsiyonu ve Tipleri

İlk defa Hunter tarafından tariflenen testis torsiyonu (TT); testisin rotasyonunu ve spermatik kordun dönmesini içeren, etkilenen testise kan akışının kısıtlanmasına neden olarak testis atrofisine yol açan yaygın bir ürolojik acil durumdur. Testis iskemik hasara özellikle duyarlıdır, çünkü kan akımı terminaldir (yani testiküler arterler anastamoz oluşturmazlar) ve tunika albuginea travma sırasında testisin kompansatuar genişlemesini sınırlayan elastik olmayan bir yapıdadır (21, 22).

Testis torsiyonu, tunika vaginalis'in (ekstravajinal torsiyon) rotasyonu ile veya sadece tunika vaginalis (intravajinal torsiyon) içinde dönen spermatik kord ve testis şeklinde olmak üzere iki şekilde meydana gelmektedir (Şekil 25) (23).

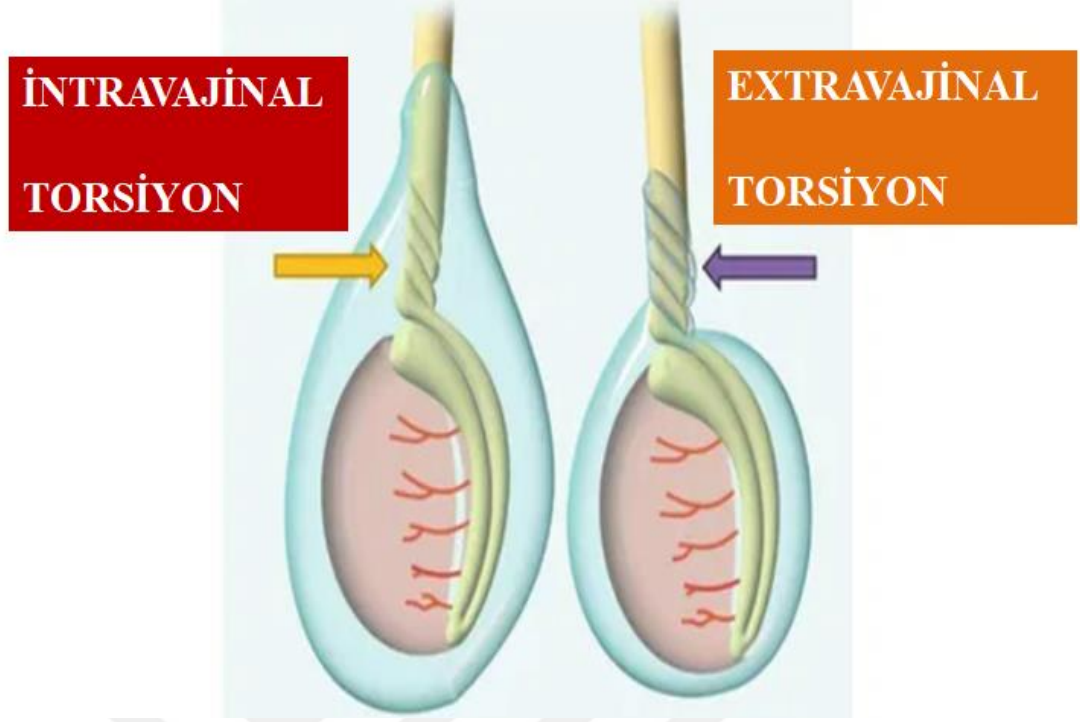
1.2.1.1. Ekstravajinal Testis Torsiyonu

Ekstravajinal torsiyon, testisin skrotuma inmesi esnasında meydana gelir ve bu nedenle neredeyse sadece perinatal dönemde (<6 haftalık) oluşur (23). Bu torsiyon şeklinin bilinen esas nedeni, tunika vaginalisin gubernakulumla yapışmaması ve dolayısıyla hem tunika vaginalisin hem de spermatik kordun torsiyona yatkın olmasıdır. Bu patoloji doğumdan haftalar veya aylar önce ortaya çıkabilir (24).

1.2.1.2. Intravajinal Testis Torsiyonu

Testis torsiyonu vakalarının çoğu, esas olarak pubertal erkek çocuklarında meydana gelen intravajinal torsiyonun sonucudur (23). Nadiren de olsa yenidoğanlarda da görülebilmektedir (24).

Tunika vaginalis genellikle testisin posterolateral kısmına sağlam bir şekilde yapışıktır ve içinde spermatik kord hareketli değildir. Tunika vaginalis'in bağlanması yüksekse, spermatik kordun içe doğru bükülmesine ve intravajinal torsiyona neden olabilir. İntravajinal torsiyona sebep olan bu anatomik varyant, "çan tokmağı" deformitesi olarak adlandırılır ve vakaların en az beşte ikisinde görülen torsiyondan sorumludur (24, 25). İntravajinal testis torsiyonu için diğer etiyolojik faktörler; inmemiş testis, cinsel uyarılma veya aktivite, fiziksel egzersiz, aktif kremasterik refleks ve soğuk havadır (26).



Şekil 11. Testis torsiyonunun iki tipinin şematik gösterimi: intravajinal ve ekstravajinal torsiyonlar (26).

1.2.2. Torsiyonun Epidemiyoloji ve Etyolojisi

Testis torsiyonu, acil servise skrotal şikayet ile gelenlerin yaklaşık dörtte birinde görülür (24, 27). Bu durum, testis kaybının en önemli nedenidir. Vakaların çoğu genç hasta (<25 yaş) grubudur ve genellikle konjenital prosesus vaginalis anomalisine bağlıdır. Başlangıç öyküsü spontan, eforla veya nadiren travma ile ilişkili olabilir (27). Yetişkinlerde ise testiküler malignitelerin varlığı ile testis torsiyonunun meydana geldiği bilinmektedir (24).

1.2.3. Testis Torsiyonunun Klinik Bulguları ve Değerlendirmesi

Testis spermatik kord etrafında dönerken, venöz kan akışı kesilir ve bu da testisin venöz tıkanıklığına ve iskemisine yol açar. Testis hassas, şiş ve eritemli hale gelir (28). Testis torsiyonu sıklıkla tek taraflı skrotal ağrının aniden başlamasıyla ortaya çıkar. Ağrı sürekli veya aralıklı olabilir, ancak pozisyonel olmayabilir. Mide bulantısı veya kusma eşlik edebilir. Alt karın ve kasık ağrısı

eşlik edebilir veya alternatif olarak bunlar skrotal ağrıdan ziyade başlangıç şikâyeti olabilir. Sonuçta alt karın ve kasık ağrısı az da olsa semptomlar içinde yer almaktadır. Testis anormal veya transvers pozisyonda ve yüksek pozisyonda olabilir. Testis şiş, eritemli ve normal kremasterik refleks kaybı görülebilir. Prehn işareti (testis elevasyonu ile ağrının giderilmesi) torsiyonun tanısında kullanılabilir ancak kesin tanı kriteri değildir (24).

TWIST skorlama sistemi genellikle testis torsiyonunun varlığını belirlemek için kullanılır. Torsiyonu dışlamak için yapılan çeşitli çalışmalarda doğrulanmıştır. TWIST skoru şunları içermektedir: Sert testis – 2 / Şişme – 2 / Mide bulantısı / kusma – 1 / Kremasterik refleks kaybı – 1 / Yüksek yerleşimli testis – 1. Puan ne kadar yüksekse, torsiyon olasılığı o kadar yüksektir. TWIST puanı yüksek olanlar ultrason olmadan ameliyata alınabilir. Düşük puan alanlar için ultrason önerilir. Ultrason, esas tanı yöntemidir ve testis torsiyonu için ultrason yaklaşık %93 duyarlı ve %100 spesifiktir.

Testislerin yan yana karşılaştırılması, renkli dopplerde boyut, sıvı birikimi; gibi farklılıkları değerlendirmek için önemlidir. Testis torsiyone ise, etkilenen testiste genellikle düşük renk veya güç akışı ve hidrosel olacaktır. Renkli akım doppler ile hastanın hem etkilenen hem de etkilenmeyen testisi değerlendirilip kıyaslanmalıdır.

Power Doppler, testis vasküler akımının değerlendirilmesinde değerlidir. Power Doppler, vasküler akış için hassastır, ancak hekim arteriyel ve venöz akışı ayırt edemez. Doppler, hem venöz hem de arteriyel akışı kontrol ederek torsiyonun ciddiyetini daha net gösterebilir (29, 30).

1.2.4. Torsiyonun Sıklığı

Testis torsiyonu genellikle yeni doğan, çocukluk ve ergenlik dönemlerinde görülür (31). 1–25 yaş aralığında yılda 4,5 / 100000 oranında görülür (32). Yenidoğan testis torsiyon sıklığı 6,1 / 100000'dir (33). İnmemiş testis vakalarında ve yenidoğanlarda sıklıkla ekstravajinal torsiyon görülür. Testis torsiyonlarının %95'i ise pubertal dönemde intravajinal olarak görülmektedir. Neonatal dönemde bildirilen intravajinal torsiyon olgusu çok azdır (34).

1.2.5. Torsiyonun Testis Üzerine Etkileri

Testis torsiyonunun esas patofizyolojisi; spermatik kordun rotasyonunun dokuyu iskemik hale getirmesi ve ardından rotasyona uğramış kordun serbest kalması ile oluşan reperfüzyonun testiste meydana getirdiği iskemi-reperfüzyon hasarısıdır (35, 36). Testis hasarının derecesini belirleyen en önemli iki faktör, spermatik kordun torsiyon süresi ve torsiyon derecesidir.

Testis torsiyonundan sonra ipsilateral testisteki uzun süreli hasarın torsiyon sırasındaki iskemi periyodundan ve detorsiyon sonrası oksidatif stresten kaynaklandığı düşünülmektedir (37). Testis detorsiyona uğradığında, oksijenden zengin kan testise geri akar ve daha sonra reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna neden olur. ROS testis DNA'sına zarar vererek germinal hücre apoptozisine neden olur (38, 39). İskemi-reperfüzyon hasarı; nötrofil salınımı, ROS oluşumu, proinflamatuvar sitokinler ve adhezyon moleküllerinin yapımında artış, lipid peroksidasyonu, apoptoz, anoksi ve mikrovasküler kan akışındaki değişiklikleri içerir ve infertiliteye neden olabilir (40).

Peroksinitrit, peroksit, hidroksil radikalleri ve süperoksit anyonları gibi ROS türleri, normal metabolik reaksiyonlar yoluyla üretilir ve patojen öldürme ve hücre sinyali verme gibi görevleri vardır. İskemi-reperfüzyon hasarında, ROS üretimi koruyucu antioksidan kapasiteyi aşabilir. Testis hücrelerinde iskeminin bir sonucu olarak ATP'nin katabolizması ile hipoksantin ve ksantin gibi pürinler birikir. Böylece, testis hücrelerine ve hücre iskeletine zarar verilir (41). Reperfüzyonla beraber, aerobik metabolizma ile oksijen metabolize edilir ve bu da DNA hasarına, endotel hasarına ve germinal hücre apoptozisine neden olabilen ROS üretimine yol açar (42). Ayrıca, iskemi-reperfüzyon hasarı, testis hücrelerinin mitokondrilerinde aşırı süperoksit birikimi ile ilişkilidir (43, 44). ROS ayrıca hücre ve mitokondri zarlarındaki lipidleri perokside eder, zar geçirgenliğini değiştirir ve hücrelerin bütünlüğünü bozar.

Nitrik oksit (NO), önemli bir hücresel sinyal molekülü ve vazodilatatör olan serbest bir radikaldir. NO, üç izoformu bulunan NO sentaz (NOS) tarafından L - arginin ve moleküler oksijenden oluşan, kısa yarı ömre sahip, serbestçe yayılabilen, suda ve yağda çözünen gaz halinde bir moleküldür. NO izoformları;

nöronal NOS (nNOS), endotelial NOS (eNOS) ve indüklenabilir NOS (iNOS)'dur (45). NO, tespit edilmiş tüm fonksiyonlarının yanında, esas olarak vasküler tonusu düzenler. Fizyolojik durumlarda NO doku hasarına yol açmaz, çünkü düzenli olarak oksihemoglobin tarafından ortamdan temizlenir. Tam aksine, enfeksiyöz ya da inflamatuvar durumlarda endotoksinler ve inflamatuvar sitokinler tarafından indüklenen iNOS ise çok yüksek miktarlarda NO salınımına neden olur ve artan NO, yüksek miktarlarda serbest radikaller oluşturarak, konağın dokularında hasara yol açmasının yanı sıra hastalığın seyrini de değiştirir (46, 47). Endotelial NOS (eNOS); Leydig hücreleri, Sertoli hücreleri, spermatositler ve spermatidlerde sentezlenir (45). NO, yüksek seviyelerde toksik olabilir; DNA, RNA, lipidler ve proteinlerde hasara neden olan ve endoplazmik retikulum kalsiyum depolarının tükenmesine neden olan yüksek reaktif peroksinitriti üretmek için süperoksit ile reaksiyona girer (48).

Apoptozis, gelişim ve homeostaz sırasında önemli bir role sahiptir ve insanlarda normal spermatogenez için gereklidir; ancak kontrolsüz apoptoz patolojik doku hasarına neden olabilir. Testiküler iskemi-reperfüzyon hasarı sırasında apoptotik yollar, inflamasyon ve ROS içeren mekanizmalar tarafından aktive edilerek germ hücreye özgü apoptozise yol açar (38). Apoptozisle ilişkili moleküller Bax, Bcl-XL ve FasL'yi kodlayan genlerin artan mesajcı RNA (mRNA) seviyeleri ve artmış sitoplazmik sitokrom c protein seviyeleri, hem kaspaz 8 hem de kaspaz 9 yollarının aktivasyonu yoluyla meydana gelen apoptotik hücre ölümündeki artışla ilişkilidir.

İskemi-reperfüzyon hasarından sonraki inflamatuvar yanıt, endotel hücrelerinde hücre adhezyon süreçlerinin aktivasyonuna ve lökositlerin etkilenen testise göç etmesine neden olur (49). Hem iskemi hem de reperfüzyon fazları, nötrofillerin ve diğer lökositlerin testis dokusuna doğru kemotaktik hareketini tetikleyen proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimine neden olur (50). Proinflamatuvar sitokinler olan interlökin-1 β (IL-1 β) ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) düzeylerindeki artışı, testis stresle ilişkili JNK (endotelial hücrelerindeki sinyal) yolağının aktivasyonu izler. Testisin iskemi-reperfüzyonundan yarım saat sonra, testiste hem TNF - α hem de IL - 1 β ekspresyonunda artış gözlenir (51).

Testis JNK yolağının aktivasyonu, hücre adhezyon molekülü olan E-selektinin ekspresyonu ve testis venüllerinde nötrofillerin tutulması ile ilişkilidir (52).

Hipoksi ile indüklenebilir faktör (HIF)'ler, hemen hemen tüm memeli hücrelerinde ve dokularında hipoksiye homeostatik transkripsiyonel yanıtların anahtar düzenleyicileridir (53). Hipoksi, germ hücresine özgü apoptotizisden, inflamasyonun aktivasyonundan, lipid peroksidasyonundan ve testiste protein profillerindeki değişikliklerden sorumludur (54). Oksijen açığının oranı ve süresi, hipoksi ile indüklenen faktör 1-alfa (HIF-1 α)'nın hücreler üzerindeki apoptotik etkilerini belirler (55). HIF-1 α , sıçan testisinde Leydig hücreleri tarafından bol miktarda eksprese edilir, testis torsiyonu ve reperfüzyonun neden olduğu iskemi ve hipoksiyi takiben antiapoptotik korumada rol oynayabilir (54).

1.2.6. Torsiyonun Fertilite ve Karşı Testis Üzerine Etkileri

Testis torsiyonu fertilitenin azalmasına neden olabilir (56). Olası kontralateral testis hasarı; kan-testis bariyerinin bozulmasına bağlı olarak ortaya çıkan, spermatogonyumlara karşı otoimmünizasyon, refleks sempatik yanıt, detorsiyonu takiben ROS üretimi ve aşırı NO üretimi nedeniyle kan akışında azalma dâhil olmak üzere bir dizi olası mekanizmaya bağlanmıştır (57-60). Testis torsiyonundan sonra infertilitenin prognozu, iskemik alanın büyüklüğüne ve kontralateral testisin etkilenme oranına bağlıdır (61).

İpsilateral torsiyondan sonra kontralateral testis hasarı için bazı teoriler; konjenital testis displazisi, akrozomal enzimlerin salınması ve refleksif vazospazmdır (62). İpsilateral testis torsiyonunda kontralateral testiste görülen değişimlerin nedeni kontralateral testise doğru kan akışının refleksif mekanizmayla azalmasıdır (60, 63).

Torsiyone kordun detorsiyonundan sonra testis germ hücre popülasyonunu kaybeder ancak Sertoli ve Leydig hücreleri sabit kalır (37, 64, 65). Deneysel bir çalışmada sıçan testisindeki Sertoli hücrelerinin hayatta kaldığı ve testis torsiyon/detorsiyonundan sonra 'neredeyse normal' bir protein paneli sergilediği bildirilmiş olsa da, testis iskemisinin irreversible spermatogenez kaybına neden olabildiği bildirilmiştir (66).

Yaşamın erken dönemlerinde tek taraflı TT başlangıcı, yetişkin erkek fertilité kapasitesini etkilememektedir. TT sırasında yaş, son gebelik oranını ve gebeliğe kadar geçen süreyi etkilemektedir. Orşiektomi ile karşılaştırıldığında, cerrahi yeniden konumlandırma / orşiopeksi daha iyi bir testiküler toparlama sağlamış ve infertilite sorunu oluşturmamıştır (67).

Erken teşhis ve cerrahi müdahale, testis hasarlarını ve kısırılığı önlemek için çok önemlidir (68).

1.2.7. Testis Torsiyonu ve Tedavi

Ultrason, önemli bir tanı parametresi iken özellikle çok genç yaşta testis torsiyonu için mükemmel bir test değildir. Örneğin, neonatal testislerin %40'ında renkli akım dopplerinde görüntü alınmayabilir. Klinik endişe yüksekse, derhal ürolojik cerrahi uygulanır. Çünkü tedavide olası bir gecikme, testis nekrozu ve kaybı ile sonuçlanabilir (29, 69, 70).

Testis canlılığı semptomların başlamasından 6 saat sonra önemli ölçüde azalır, bu nedenle erken teşhis önemlidir (24). Rotasyon ve sonrasında arteriyel daralma, testis dokusunda hasara neden olan iskemiye neden olur, bu nedenle durum akut cerrahi ile tedavi edilmelidir.

Cerrahi işlemin seçimi torsiyone testisin intraoperatif görünümü ile belirlenir. Tamamen siyah ve nekrotik olan testisler genellikle orşiektomi yapılarak çıkarılır. Cerrahi işlem sırasında açılan testis kurtarılabilir görünüyorsa, testis manuel detorsiyone edilip ve skrotuma sabitlendiği uygulama olan orşiopeksi yapılır. Torsiyone testisin kurtarılabilirliği torsiyon süresi ve dolayısıyla toplam iskemi süresi ile ilişkilidir (71, 72).

Cerrahi müdahale hemen yapılamayacaksa, manuel detorsiyon denenmelidir. Torsiyone testis medialden laterale (açık kitap) 180 derece döndürülmeli ve ardından ağrı azalması ile değerlendirilmelidir. Ağrı artarsa, testis ters yönde döndürülür. Ultrason, yatak başında kan akışının geri dönüşünü değerlendirmek için seri olarak da kullanılabilir. Başarısız olursa, testis 180 derece dönebildiği için daha fazla manuel detorsiyon denenebilir (29, 69, 70).

Avrupa Üroloji Birliği kılavuzları, ipsilateral testisin orşiektomisinin veya orşiopeksinin ne zaman yapılacağını belirtmeyip, bunun torsiyonun derecesine ve süresine bağlı olduğunu belirtir (73).

Çan tokmağı deformitesiyle doğan erkek çocukların tahmini %60 ile %80'inin kontralateral testiste deformiteye sahip olacağından kontralateral orşiopeksi yapılması önerilmektedir, bu da onları kontralateral tarafta yeni bir TT atağı için riske sokmaktadır (74).

Yenidoğanlarda bilateral skrotal eksplorasyon yapılır. Kontralateral orşiopeksi gelecekteki torsiyonu önlemek için yapılır. Canlı olmayan bir testis için orşiektomiye ihtiyaç duyan hastalara genellikle testis protezi takılır (70).

1.2.8. Testis Torsiyonu ve Prognoz

Spermatik kord detorsiyonu torsiyon başlangıcından 6 saat sonra yapılırsa testis kurtarma oranı %90'dır (74-76). Ancak 12 saat sonra bu kurtarma oranı %50'ye, 24 saat sonra %10'un altına düşmektedir (25). Spermatik kord torsiyonunun süresi ve derecesi, arteriyel daralmanın neden olduğu hipoksiden sonra testis dokusu surveyinin ana belirleyicileridir (28). Testiste seminifer tübül germinal epitel hücreleri, Leydig hücreleri ile kıyaslandığında iskemiye karşı daha duyarlıdır. Spermatogenetik seri hücreleri ve Sertoli hücreleri 6 saatin sonunda yok olurken, Leydig hücreleri 10 saatin sonunda kaybolur (77).

Etkilenen testiste detorsiyona ve bunu izleyen orşiopeksiye rağmen klinik muayenede ipsilateral testisin atrofisi bulunabilmektedir (78, 79). Testis kaybı, enfeksiyon, infertilite, kozmetik deformite, ekzokrin ve endokrin fonksiyon kaybı veya azalması yetersiz veya geç müdahale sebebiyle ya da insidental olarak torsiyon sonrası görülebilecek komplikasyonlardır (24).

Testis torsiyonu vakalarının yaklaşık %20-40'ı orşiektomi ile sonuçlanır. Daha da önemlisi, testis orşiopeksi ile sabitlendiğinde, gelecekte torsiyon potansiyeli de vardır (80).

1.3. İmmün Sistem

İmmünolojik kavramlar tıpta, teşhis, tedavi, önleme ve patogeneze ile ilgili alanlarda geniş uygulamalarda yer almıştır. İmmünolojinin bilimsel bir disiplin olarak gelişmesine yol açan temel gözlem, bir bireyin belirli bir hastalığa yalnızca bir kez yakalandıktan sonra yaşam için dirençli hale gelebileceğiydi. Latince "immunis" den (muaf) türetilen bağışıklık terimi, kızamık veya çiçek hastalığı gibi hastalıklara karşı doğal olarak elde edilen bu korumayı belirtmek için benimsenmiştir (81).

Biyolojik olarak "immünite" terimi, tarihsel olarak patojenlere karşı direnç anlamına gelir; bununla birlikte, zararsız çevresel moleküller, tümörler ve hatta değiştirilmiş konak bileşenleri dâhil olmak üzere bazı bulaşıcı olmayan maddelere reaksiyonlar da immünite (bağışıklık) formları olarak kabul edilir (sırasıyla alerji, tümör bağışıklığı ve otoimmünite). Bu reaksiyonlara aracılık eden hücre, doku ve moleküllerin toplanmasına immün sistem denir ve bu hücrelerin ve moleküllerin patojenlere ve diğer maddelere koordineli tepkisi bir immün cevap oluşturur. İmmün sistemin en önemli fizyolojik işlevi enfeksiyonları önlemek veya yok etmektir. Ayrıca bazı tümörlerin büyümesini engeller ve bazı kanserlerde tümör hücrelerine karşı immün yanıt uyarılarak tedavi sağlanabilir. İmmün sistem, hasarlı dokuların onarımında da önemli bir rol oynar.

İmmün savunmanın daha kapsamlı bir tanımı, mikroplara olduğu kadar, böyle bir reaksiyonun fizyolojik veya patolojik sonucuna bakılmaksızın yabancı olarak tanınan diğer moleküllere verilen bir tepkidir. Çünkü immün sistem mikrobiyal ve mikrobiyal olmayan tüm uyaranlara cevap verebilir ve bu nedenle bazı durumlarda hastalıkla sonuçlanabilir (82).

1.3.1. İmmün Sistem Organları

İmmün sistem organları, lenfoid organlar olarak da bilinmektedirler. Bu organlar immün sistemde asıl görevi üstlenen hücrelerin oluşumu, gelişimi ve salınımı gibi etkinliklerin kontrolünü sağlayarak immün yanıtta rol oynarlar. Histolojik olarak immün sistem; vücudun her dokusunda yerleşmiş olan çeşitli

lökositlerden, kan ve lenfatik dolaşım ile birbirine bağlı lenfoid organlardan oluşur (83).

İmmün sistem; doğuştan gelen ve edinilmiş immün kollar arasında iş birliğine dayalı bir çabayla, vücudun herhangi bir yerinde patojenlerin istilasına karşı savunma için en uygun ortamı sağlar. Organize lenfoid hücre birikimlerinin yerleri, primer ve sekonder lenfoid organlar olarak adlandırılır (84).

1.3.1.1. Primer Lenfoid Organlar

Lenfositler ve antijen sunucu hücreler kan, lenf, epitel doku, bağ dokusu gibi vücudun çeşitli yerlerine dağılmış halde bulunur. Lenfositler ilk olarak primer lenfoid organlarda oluşur. Primer lenfoid organlar ise kemik iliği ve timustur (9).

1.3.1.1.1. Kemik İliği

Uzun kemiklerin medüller boşluğu ve süngerimsi kemiklerin trabekülleri arasındaki boşluklar, kemik iliği olarak bilinen yumuşak, jelatinimsi, oldukça vasküler ve hücreli dokuları barındırır. Kemik iliği endosteum (osteoprogenitör hücreler, osteoblastlar ve daha az olarak osteoklastlardan oluşur) tarafından kemikten izole edilir. Kemik iliği toplam vücut ağırlığının yaklaşık %5'ini oluşturur. Kan hücrelerinin oluşumundan (hemopoez) ve bunların dolaşım sistemine verilmesinden sorumludur. Bu işlevi doğum öncesi yaşamın beşinci ayından ölüme kadar gerçekleştirir. Kemik iliği ayrıca B lenfositlerinin olgunlaşma süreci ve T lenfositlerinin ilk olgunlaşması için uygun bir mikro ortam sağlar. Yenidoğanın kemik iliği, ürettiği çok sayıda eritrosit nedeniyle kırmızı kemik iliği olarak adlandırılır. 20 yaşına gelindiğinde, uzun kemiklerin diyafizleri, büyük miktarlarda yağ birikimi ve bu kemiklerin şaftlarında hemopoez olmaması nedeniyle sadece sarı kemik iliğini barındırır. Bununla birlikte; yassı kemikler, kısa kemikler, düzensiz kemikler ve yetişkin uzun kemiklerinin epifizleri hala kırmızı kemik iliğini barındırır. Adventisyal retiküler hücreler sitoplazmalarında yağ biriktirdikçe adipoz hücrelerine benzemeye başlarlar. Bu çok büyük hücrelerin kapladığı hacim, hemopoietik alanı küçülterek kırmızı iliği sarı kemik iliğine dönüştürür (12). Kök hücreler ve tüm hemotopoetik hücrelerin

yanı sıra, makrofajlar, stromal hücreler, bağ dokusu hücreleri ve adipositler de kemik iliğinde yerleşim gösterirler (85).

1.3.1.1.2. Timus

Timus; vücudun savunma mekanizması olarak görev yapan, çeşitli patojenlere, tümörlere, antijenlere ve doku hasarı mediyatörlerine karşı gözetim ve koruma sağlayan immün sistem için oldukça önemli bir organdır (86).

Üst mediastende yerleşmiş iki loblu ve her bir lobu medulla ve korteks kısımlarından oluşan lenfoid bir organdır. Timusun esas görevi düzenleyici T hücreleri ile öz bağışıklığı önleyen santral toleransı uyarmasıdır. Timus 3. yutak ceplerinden (endoderm) köken alır, gelişimi süresince öncül lenfoblastlar kemik iliğinden göç ederek timik epiteli işgal eder ve burada çoğalırlar. Timus puberteye kadar boyutlarını korur ve T hücre üretiminde çok aktiftir. Puberte sırasında involüsyona uğrar.

Timus korteksinde büyük bir T lenfoblast (timosit) popülasyonu bulunmaktadır. Timositlerin bazıları venüllere girerler ve makrofajların arasına yerleşirler, hem epitelyal hem de retiküler hücre özelliği taşıyan timik epitelyal hücreler (TEC) ile ilişki kurarlar. Kortekste başlıca üç tip TEC bulunmaktadır:

- a) **Yassı TEC'ler:** Tabaka halinde, desmozom ve sıkı bağlantılarla bağlıdır. Kapsülün bağ dokusunu ve septasını döşerler. Damar endotel hücreleri ve perisitlerle kan-timus bariyerini oluştururlar. Bu bariyer timositlerin antijenlerle kontrolsüz karşılaşmasını önler.
- b) **Yıldızlı TEC'ler:** Makrofajlar ve gelişen lenfositler, retikulum lifleri yerine bu yapıya bağlanırlar. Bu hücreler MHC (Majör-histokompabilite kompleksi) sınıf I ve MHC sınıf II moleküllerini de ifade eden ASH'lerdir.
- c) **Diğer yassı TEC'ler:** MHC sınıf II molekülleri ifade ederler.

Timositlerde, timus korteksinde iki aşamalı seçim sürecine dayalı sıkı bir kalite kontrolüne tabi tutulur ve sonuçta tam olarak işlevsel olan ancak kendi antijenlerini taşıyan MHC'leri tanımayan T hücre reseptörlerine sahip olgun T hücreleri seçilir. Her öncül T lenfosit için seçim işlevi kortekste başlar, medullada biter. Timustan dolaşıma geçmesi otoimmüniteye neden olabilecek, kendi antijenlerini taşıyan MHC'lere bağlanan T hücreleri ise apoptozise gider ve

makrofajlar tarafından fagosit edilerek ortadan kaldırılır (9). Olgun T lenfositleri medullaya doğru göç eder, timusu terk ederek dolaşım sistemine katılır ve sekonder lenfoid organlara dağılırlar (12).

1.3.1.2. Sekonder Lenfoid Organlar

Lenfositlerin antijenlerle karşılaştığı ve antijenik uyarılara yanıt verdiği, böylece lenfositlerin etkin hale geldiği ve çoğaldığı lenfoid organlardır (9).

1.3.1.2.1. Lenf Düğümleri

Lenf düğümleri kapsüllü organlardır. Damarlar boyunca tüm vücuda dağılmış halde bulunurlar. Mikroorganizmaların ve tümör hücrelerinin yayılmasına karşı savunma oluşturan sıralı dizilmiş lenf süzgeci gibidirler. Plazma hücrelerinin Ig A dışındaki antikorlarının üretimini sağlarlar. Lenf, dolaşıma girmeden önce en az bir lenf düğümünden süzülür ve bu lenf sıvısına antikor eklenir.

Lenf düğümleri gevşek bağ dokusunda gömülüdür. Afferent lenfatiklerin girdiği bir dış bükey yüze ve hilum olarak adlandırılan bir iç bükey yüze sahiptirler. Efferent lenfatikler hilumdan çıkarken; arter, ven ve sinirler organa giriş yaparlar. Lenf doku kapsülü, organın içinde trabeküller oluşturur ve trabeküller içerisinde kan damarları dallanır. Lenfatiklerdeki kapaklar, lenf sıvısının tek yönlü akışını sağlar. Lenf düğümünün hücreleri; bütün lenfosit tipleri, plazma hücreleri, dendritik hücreler, makrofajlar ve diğer ASH'lerdir. Tüm hücreleri retiküler hücreler ve retiküler liflerin oluşturduğu alanda bulunur.

Lenf düğümleri üç ana bölgeden oluşur; en dışta korteks, korteksin iç uzantısı parakorteks ve en içte medulladır. Subkapsüler sinüs ve lenf folikülleri kortekste bulunur. Subkapsüler sinüs korteksin hemen altında afferent lenfatiklerden lenfi alır. Lenf folikülleri, yardımcı T lenfositler ve çoğalan B lenfositler tarafından oluşturulurlar. Parakorteks, T lenfositlerden zengin bölgedir. Parakorteksin özelleşmiş postkapiller venüllerine yüksek endotelli venül (HEV) denir ve çoğu lenfositin lenf düğümüne girdiği önemli bölgeyi oluşturur (9).

B hücreleri lenf düğümlerinde kortekste foliküller ve germinal merkezlerde makrofajlar ve dendritik hücreler ile birlikte bulunurken, T hücreleri

parakortikal ve interfoliküler bölgelerde dendritik hücreler ile birlikte yerleşmişlerdir. Kortekste B hücrelerinin antijenle karşılaşarak proliferasyon olmaları sonucunda germinal merkezleri içeren çok sayıda sekonder lenf folikülü oluşur (9, 12). Antijen ile uyarım sonrası germinal merkezlerde yer alan B lenfositler antikor üreten plazma hücrelerine dönüşmek üzere farklılaşmaya başlar. Olgun plazma hücreleri medulla kordonlarına göç ederek sentezledikleri spesifik antikorları salgırlar (18).

1.3.1.2.2. Dalak

Dalak vücutta sol üst kadranda bulunan en büyük lenfoid organdır. Kanın süzldüğü tek lenfoid organ olduğı için kanla taşınan antijenlere karşı savunmanın olduğı önemli bir organdır. Ayrıca dalak yaşlı eritrositlerin imha edildiğı, antikorların üretildiğı ve lenfositlerin aktive olduğı aynı yerde direkt kana karıştığı organdır.

Dalak, kırmızı ve beyaz (dalağın %20'si) pulpadan meydana gelmiştir. Beyaz pulpada bulunan yapılar, lenf folikülleri ve periarteriyal lenfoid kılıf (PALS) iken, kırmızı pulpada, kan ile dolu sinüzoidler ve dalak kordonlarıdır (9).

Dalağın beyaz pulpası diffüz ve nodüler lenfoid doku içerir. Beyaz pulpanın görevleri; T hücrelerinin aktivasyonu ve proliferasyonu, B hücrelerinin farklılaşması ve plazma hücrelerinin antikor salgılamasıdır. Kısaca beyaz pulpa, diğer lenfatik organların eşdeğeridir. Dalağın kırmızı pulpası ise dalak kordonları (Billroth kordonları) ile desteklenmiş birbirine bağlı sinüzoidlerin meydana getirdiğı bir ağdan oluşur. Kırmızı pulpanın görevleri; esas olarak kanın filtrasyonudur (partiküllerin, makromoleküler antijenlerin ve yaşlanmış, anormal veya hasar görmüş eritrositlerin ve trombositlerin dolaşımdan uzaklaştırılması). Bu işlevler, kırmızı pulpanın retiküler ağına gömülü makrofajlar tarafından gerçekleştirilir (87).

1.3.1.2.3. Mukoza İle İlişili Lenfoid Doku

Vücuttaki lenfoid hücrelerin büyük çoğunluğunu kantitatif olarak içeren mukozal ilişkili lenfoid dokular (MALT); IgA'nın esas üretildiğı yerdir ayrıca besin antijenlerine ve kommensal bakterilere tolerans sağlamaktan ve

sürdürmekten sorumludur (88). İnsan ve kemiricilerde, T ve B hücre alanlarını içeren lenfoid yapılar özelleşmiş submukozal alanlarda gözlenebilir (89). MALT, mukozal yüzeylerden giren antijenlere karşı immün yanıt oluşturan bölgelerdir. Bu bölgelerde bulunan B hücreleri plazma hücrelerine dönüşerek, antijenlerle karşılaştığında IgA sentezini yaparak, antijenlere karşı koruma sağlar (9, 85). MALT'da yer alan bağışıklık hücrelerinin çoğu bağ doku içerisinde diffüz bir şekilde dağılmış olarak bulunurlar. MALT; solunum sistemi (adenoidler, tonsiller), sindirim sistemi (Peyer plakları, apendiks, bağırsak), bağırsak mukozasında bulunan lenfositler (Bağırsak ile ilişkili lenfoid doku; GALT) ve ürogenital sistem lenfoid dokuları bölgelerinde organize olmaktadır. Kütle olarak MALT, en büyük lenfoid organlardan biridir. Buradaki lenfositlerin çoğu B lenfositlerdir, T lenfositleri arasında ise CD 4⁺ yardımcı T lenfositler en baskın hücrelerdir (9).

1.3.2. İmmün Sistem Hücreleri

1.3.2.1. Makrofajlar

Makrofajlar yaklaşık 10 ila 30 µm çapında ve düzensiz şekilli hücrelerdir. Aktif makrofajlar, hücre hareketi ve fagositoz için plazma zarlarında kıvrımlar gösterirler. Sitoplazmaları bazofiliktir ve çok sayıda küçük vakuol ve granüller içerir. Makrofaj çekirdeği, böbrek şeklinde oval ve genellikle bir tarafı girintilidir. Elektron mikroskopik olarak, iyi gelişmiş bir Golgi aygıtı, belirgin granüllü endoplazmik retikulum ve çok sayıda lizozom içermektedirler (90, 91).

Makrofajlar, mononükleer fagositer sistemin hücreleridir. Mononükleer fagositer sistemin tüm üyeleri, kemik iliğindeki ortak bir kök hücreden ortaya çıkar. Çok fazla lizozoma sahiptirler, fagositoz yapabilirler ayrıca FcεRI reseptörleri ve tamamlayıcı reseptörler içerirler. Monositler kemik iliğinde gelişir ve kana salınırlar. Özel sinyallerle, kılcal damarların veya venüllerin endotelinden geçerek kan dolaşımını terk ederler. Bağ dokusu kompartmanında, normal şartlarda yaklaşık 2 aylık bir ömre sahip olan makrofajlara dönüşürler. Makrofajlar, makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF) tarafından aktive edilen

monositlerden kaynaklanır. Koloni oluşturan birim monosit (CFU-M) mitozu kolaylaştırarak makrofajları oluşturmaları için monositleri farklılaştırır (82, 90).

Nötral proteazlar ve glikozaminoglikanları parçalayan enzimlerin salıverilmesiyle makrofajların bağ dokusu içine göç etmeleri sağlanır (18). Bağ dokusunda, monositten makrofaja dönüşümle birlikte hücre boyutunda, protein sentezinde, golgi kompleksi ve lizozom sayısında artış meydana gelir (9). Vücudun genel çöpçüsü olan makrofajlar, bir dokuya yerleşebilir ya da bir organdan lenfoid dokulara serbestçe göç edebilirler. Makrofajlar hem nonspesifik hem de antijen spesifik immün yanıtlarda önemli fonksiyonlara sahiptirler (92).

Vücudun belirli bölgelerinde lokalize olan makrofajlara özel isimler verilmiştir (Tablo 1). Karaciğerin Kupffer hücreleri, akciğerin dust hücreleri, derinin Langerhans hücreleri, kanın monositleri ve bağ dokusu, dalak, lenf düğümleri, timus ve kemik iliğinin makrofajları mononükleer fagosit sisteminin tüm üyeleridir ve de benzer morfoloji ve işlevlere sahiptirler (90, 93).

Makrofajlar yaşlanan, hasarlı ve ölü hücreleri ve hücre atıkları fagosit eder ve lizozomlarındaki hidrolitik enzimlerin etkisiyle bunların sindirimini sağlar. Makrofajlar ayrıca mikroorganizmalar dâhil yabancı maddeleri fagositoz yoluyla yok ederek vücudun savunma mekanizmasına yardımcı olur. İmmün cevap sırasında, lenfositler tarafından salınan faktörler makrofajları aktive ederek fagositik aktivitelerini artırır. Bu şekilde aktive edilmiş makrofajlar, şekil bakımından önemli ölçüde değişiklik gösterir, mikrovilluslara sahiptirler ve inaktive edilmiş makrofajlara kıyasla daha fazla harekete sahip olurlar. Makrofajlar ayrıca antijenlerin lenfositlere sunulmasında önemli bir rol oynar ve bu nedenle antijen sunan hücreler olarak da bilinirler. Bunu yabancı proteinleri fagosit ederek yaparlar. Onları epitop olarak adlandırılan kısa peptid dizilerine ayırırlar. Bu epitoplar, ana doku uygunluk kompleks molekülleri ile kompleksleştirilir (MHC I veya MHC II), ve hücre zarlarına yerleştirir, daha sonra MHC aracılı T hücrelerine sunma olayı gerçekleşir (12). Bu şekilde yardımcı CD4+ T lenfositlere antijen sundukları için ASH olarak adlandırılmaktadırlar (90).

Hem sitotoksik T hücreleri hem de Th1 (T helper) lenfositler, duyarlı hale geldikleri enfekte hücrelerin öldürülmesine aracılık edebilir. Sitotoksik T

hücreleri, enfekte hücreleri doğrudan öldürerek etki gösterirler. Aktive edilmiş Th1 hücreleri ise sitokinlerin etkisiyle interferon- γ ve IL-2 salgırlar, makrofajları aktive ederler ve bu makrofajlar da hücre içi enfeksiyöz ajanları yok ederler (85, 90). Sitokinler lenfoid organlar ile enfeksiyon ve doku hasarı bölgelerindeki inflamasyon sırasında, immün sistem hücrelerinin savunma için birbirleriyle iletişim kurmasını sağlarlar. Sitokinler, hem doğal hem de edinsel immünitede görevli bir grup peptit ve glikoproteindir. İmmün yanıtlarda hücre aktivitesini kontrol ederler (9).

ASH'ler ve T lenfositler tarafından ifade edilen yüzey proteinleri ile ASH'ler tarafından salınan sitokinler tarafından gönderilen sinyaller arasındaki etkileşim, yardımcı T hücrelerinin kostimulanları olarak işlev görür. ASH'ler gibi makrofajlar da interlökinler -1, -6 ve -12 dahil antijenle uyarılan lenfositlerin proliferasyonuna yardımcı olan sitokinler salgırlar. B hücreleri, bir MHC molekülü ile ilişkilendirilmesi gerekmeyen serbest veya hücreyle ilişkili antijenlerdeki epitoplari tanıyabilir (85).

Dalak kordonlarında sıralanan makrofajlar periferel kanın filtreleme işlevini görmektedir. Marjinal bölgede antijenler, beyaz pulpada bulunan makrofajlar tarafından tutulur. Antijen yüklü makrofajlar daha sonra T ve B lenfositleri ile etkileşime girerek immün tepkimeyi başlatır (9, 90).

Makrofajların fagositik özellikleri, sadece Fc ve/veya kompleman reseptörlerinin IgG ve/veya kompleman ile kaplı antijen molekülleri tarafından bağlanmasından sonra tamamen ifade edilebilir. Tüm bunlar primer ve sekonder cevabın daha geç aşamalarda başlamasına neden olabilir. Öncelikle antijenler endositoz ile alınır, asidik kompartmana (lizozom) taşınır. Antijenler parçalandıkça, yeni sentezlenen HLA-II (Human Lökosit Antijen) molekülleri ile kaplanmış veziküller lizozom ile birleşir. İşleme sırasında üretilen peptitlerin bazıları, başlangıçta bir endojen peptit (sınıf II ile ilişkili değişmez zincir peptit) tarafından işgal edilen ve antijenden türetilmiş peptit tarafından değiştirilen MHC-II heterodimer içinde yer alan bağlanma bölgesine yüksek afiniteye sahiptir. Ortaya çıkan MHC-peptid kompleksleri daha sonra ASH hücre membranına taşınır ve burada peptide özgü reseptörleri taşıyan CD4⁺ T hücreleriyle etkileşime girebilir ve bunları aktive edebilir (82, 90).

HLA sınıf I molekülleri, tüm çekirdekli hücrelerde eksprese edilir, ancak özellikle lenfositlerin yüzeylerinde bol miktarda bulunur. HLA-A, HLA-B ve HLA-C olarak farklı gruplara ayrılır. CD8⁺ T hücreleri vücuttaki enfekte veya anormal hücreleri bulmak ve yok etmek için görevlidir. HLA sınıf II molekülleri yapısal olarak sadece B hücreleri ve monosit/makrofaj ailesinin hücreleri üzerinde eksprese edilir. Daha sonra, ciltteki Langerhans hücreleri, karaciğerdeki Kupffer hücreleri, merkezi sinir sistemindeki mikroglial hücreler ve dalak ve lenf düğümlerindeki dendritik hücreler gibi tüm antijen sunan hücrelerinde de bulunur. Sınıf II ekspresyonu, T hücreleri ve endotelial hücreler dahil olmak üzere, aktivasyonu takiben diğer hücre tiplerinde indüklenir. α - ve β -interferonlar sınıf I ekspresyonunu arttırırken, interferon γ hem sınıf I hem de sınıf II moleküllerin ekspresyonunu artırır. İnterferonlar, virüslerden veya bakterilerden salınan moleküler sinyallerle karşılaşan doğal bağışıklık sistemi hücreleri tarafından üretilir. Bu nedenle, interferonlar, antijen sunan hücreler ve enfekte olmuş hücreler üzerindeki HLA ekspresyonunu artırarak, istilacı organizmalara karşı adaptif immün yanıtları güçlendirir. Artan HLA sınıf I ve sınıf II ifadesinin sonuçları hem yararlı hem de zararlı olabilir. Bir yandan, patojenlere karşı T hücresi tepkilerinin indüksiyonunu kolaylaştırır, ancak diğer yandan, otoreaktif T hücrelerinin aktivasyonu için optimal koşulları yaratabilir (90).

Klasik olarak aktive edilmiş makrofajlar, Th-1 sitokin, IFN- γ (interferon-gama) ve TLR-4 (Toll like reseptör 4) sinyalini aktive eden bakteriyel LPS gibi mikrobiyal tetikleyicilere cevap olarak gelişir (94, 95). Hem maternal hem de fetal kaynaklı makrofajlar gebeliğin her aşamasında önemli bir rol oynar. Bu hücreler, uterin bağ dokularının ve kan damarlarının yeniden yapılandırılması, implantasyonun düzenlenmesi, fetal antijenlere karşı immün tolerans, komşu lökositlerin immünomodülasyonu ve bölünmenin başlatılması gibi başarılı hamilelik için gerekli olan çeşitli işlemleri destekler (82, 96, 97).

Makrofajlar uyarıldıklarında ya da büyük yabancı cisimlerle karşılaştıklarında yabancı cisimleri çevreleyerek fagosit etmek için çok nukleuslu hücre oluşturmak üzere kaynaşırlar. Bu çok nukleuslu hücrelere yabancı cisim dev hücreleri (Langerhans hücreleri) adı verilir (12, 18).

Th1 hücreleri, transkripsiyon faktörü TGF-beta'yı ifade eder ve büyük miktarlarda interferon (IFN)- γ , tümör nekroz faktörü (TNF) - α , IL-2 ve granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) üretir. CD4⁺ T hücreleri, hazırlıkları sırasında IL-12 üretildiğinde Th1 hücrelerine farklılaşır. Th1 hücreleri, hücre içi patojenlere karşı immün yanıtta son derece önemlidir. Ürettikleri sitokinler, efektör kapasitelerini artırmak için makrofajları, NK hücrelerini ve CD8⁺ T hücrelerini aktive eder (98).

Monosit / makrofaj hücre serileri, antijenleri işleme ve immün sisteme antijen türevi peptidler sunma yeteneklerinden dolayı, immün cevabın indükleyici aşamalarına dahil olmaktadır. Monositler ve makrofajlar ayrıca, hem aktive edici sinyaller (IL-1, IL-6 ve IL-12 formunda) hem de T lenfositlere sinyaller (esas olarak PGE2 formunda) sağlayan immünomodülatör sinyaller de içerirler. Dolaşımdaki monositler ve makrofajlar genellikle, fagositik ve öldürme potansiyellerini tam olarak ifade edebilmeleri için birkaç tip uyaran tarafından aktive edilmesi gereken dinlenme halinde bulunan hücreleridir. Aktive edici faktörler arasında mikroorganizmalar veya bunların ürünleri ve sitokinler yer alır. Ana aktive edici sitokin, aktifleştirilmiş Th1 hücreleri tarafından salınan interferon- γ 'dır. Aktive edilmiş makrofajın özgün morfolojik ve fonksiyonel özellikleri vardır. Morfolojik olarak, aktif makrofajlar daha büyüktür ve sitoplazması yayılma ve yüzeylere bağlanma eğilimindedir. Plazma zarının bileşimi değiştirilir ayrıca pinositoz ve yutma oranları artar (C3b reseptörleri yoluyla fagositoz ancak aktivasyondan sonra görülür). Hücre içi enzimatik içeriklerde, özellikle plazminojen aktivatör, kollajenaz ve elastazda belirgin bir artış vardır. Oksidatif metabolizma (süperoksit ve H₂O₂ oluşumuna yol açar) ve ayrıca iNOS aktivitesi büyük ölçüde artar (82, 90, 94).

Tablo 1. Mononükleer fagositik sistem hücrelerinin dağılımı ve ana işlevleri (9).

Hücre tipi	Esas Konumu	Esas Görevi
Monosit	Kan	Makrofajların öncülü
Makrofaj	Bağ dokusu, lenfoid organlar, akciğerler, kemik iliği	İnflamasyona (savunma) katılan sitokinlerin, kemotaktik faktörlerin ve diğer moleküllerin üretimi, antijenlerin hazırlama ve sunma
Kupffer hücresi	Karaciğer (perisinüzoidal)	Makrofaj ile aynı
Mikroglia hücresi	Merkezi sinir sistemi	Makrofaj ile aynı
Langerhans hücresi	Derinin epidermisi	Antijen hazırlama ve sunma
Dendritik hücre	Lenf düğümleri, dalak	Antijen hazırlama ve sunma
Osteoklast (birçok makrofajın birleşmesi ile oluşur)	Kemik	Kemik matrkisin sindirilmesi
Çok çekirdekli dev hücre (birçok birleşmiş makrofaj)	Çeşitli patolojik durumlardaki bağ dokusunda	Yabancı maddelerin ayrılması ve sindirilmesi

1.3.2.1.1. Testis Makrofajları ve Makrofaj Polarizasyonu

Testis iki ana bölüme ayrılmıştır: Bunlar başlıca; spermatogenezin meydana geldiği seminifer tübüller ve erkek seks hormonlarını üreten Leydig hücrelerinin bulunduğu interstisyel alandır (10). Spermatogenez sırasında germ hücreleri, bazal membrandan tübül lümenine uzanan Sertoli hücreleri ile yakın bir

ilişki içerisinde bölünür ve olgunlaşırlar (9). Birbirine komşu Sertoli hücreleri tight junction, makula adherens ve gap junction tipi bağlantılarla gelişmekte olan germ hücrelerini koruyan kan testis bariyerini (KTB) oluştururlar. Sertoli hücreleri ve spermatogonyumları çevreleyen, hücre dışı matriks proteinleri ve kontraktıl peritübüler hücreler (PTH, miyoid hücreler) içeren bir bazal membran, seminifer epiteli interstisyumdan ayıran bir tabakadır (99). Testisin immün hücreleri, yalnızca interstisyumda bulunur ayrıca miyoid hücreler, Leydig hücreleri, lenfatik ve kan damarlarıyla yakın ilişki içinde bulunurlar. Lenfatik boşluğun yüzeyini kaplayan testis pariyetal lenfatik endotel hücreleri (LEH) tarafından salgılanan fibroblast büyüme faktörü ligandları yoluyla esas olarak PTH tabakasına yakın peritübüler alanda spermatojenik kök hücre homeostazına katkıda bulunur. Son zamanlarda, kemirgen ve insan testisinde LEH ile benzer şekilde lokalize bir stromal hücre tipi olan telositler tanımlanmıştır (100, 101). Lenfatik kapiller fonksiyonun düzenlenmesinde telositlerin olası bir rolü olduğu ileri sürülmüştür (102). İmmün hücreler ve somatik hücreler (LH, SH ve PTH) tarafından salgılanan immünomodülatör faktör, KTB ile kombinasyon halinde benzersiz bir immünolojik ortam oluşturur: immünojenik germ hücreye özgü neoantijenleri ve transplantları immün saldırıdan korur ve sensitif germ hücrelerini korumak için dengeli bir immün tepkime oluşturarak invaziv patojenlere yanıt verir (103, 104).

Makrofajlar, immün ve nonimmün işlevleri yerine getirmek üzere tüm memeli organlarında bulunmaktadır. Makrofajlar genel olarak, fagositik özelliklere sahip, yabancı partikülleri yutan ve bakteri gibi patojenleri istila eden ve hücre kalıntılarını temizleyen bir immün hücre popülasyonunu oluşturur (105). Makrofajlar gerekli durumlarda farklı uyaranlara cevap olarak farklı tiplere polarize olabilen heterojenik ve dinamik hücreler topluluğu olarak da tanımlanabilir. Polarizasyon, bir yandan makrofajların değişen ortamlara uyum sağlamasına yol açarken, diğer yandan uyaranlara ve yerel mikroçevrenin durumuna göre de değişiklik göstermektedir. Farklı uyaranlar ile makrofajlar sadece tek bir tipe polarize olup, tek tipte klonal olarak çoğalmayabilirler. Makrofajların farklı fonksiyonları; mikroçevredeki sitokin profiline göre, uyaranlar ve uyaranların farklı reseptörler ile tanınması ile ilişkili olarak da

değişim göstermektedir (106). Makrofajlarla ilgili olarak son yıllarda yeni bir kavram olan M1/M2 makrofaj polarizasyonu tanımlanmıştır (107). Buna göre iki genel makrofaj polarizasyon fenotipi ayırt edilmektedir. Bunlar; klasik olarak aktive edilen makrofajlar olan M1 tip ve alternatif olarak aktive edilen makrofajlar olan M2 tip'dir (106-108). Makrofajların M1/M2 polarizasyonu dinamik bir süreç olup polarize makrofajların fenotipi fizyolojik ve patolojik şartların değişimine bağlı olarak tersine çevrilebilir (109, 110). Mikroplardan, normal ve hasarlı doku mikroçevresinden gelen sinyallerden oldukça etkilenen makrofajlar, plastisite özelliği gösterirler ve işlevlerini, klasik M1 veya alternatif M2 makrofajlara dönüşerek değiştirebilirler (111-113). Klasik olarak aktive edilmiş M1 makrofajlar proinflamatuvar efektör doğal immün cevap hücreleridir. Bu hücreler LPS, IFN ve GM-CSF ile aktive olurlar, yüksek oranda TNF- α , IL-1, IL-6, IL-12, IL-23 gibi sitokinleri üretirler (106, 114). Profesyonel antijen sunan hücreler olan M1 makrofajlar, iNOS enzimi tarafından üretilen nitrik oksit ile ilişkili olarak antimikrobiyal fonksiyon gösterirler ve fagositoz aktivasyonu için kompleman sistemi proteinlerini eksprese ederler (106). M1 makrofajlar tarafından üretilen sitotoksik faktörler, doku hasarı sonrası konak savunmasının önemli bir bileşeni olmalarına rağmen, konakçı dokularda büyük hasarlara da neden olabilirler. M1 tipi makrofajlar, oksijen radikalleri, nitrojen radikalleri ve süperoksit anyonları üreterek doku tahribatına neden olurlar (98). Epigenetik, doku mikroçevresi ve mikroorganizmaların ürünleri ile inflamasyonda salgılanan sitokinler makrofaj polarizasyonunu kontrol edebilirler (112) Hücre kültürü deneyleri sonucunda makrofajların IFN- γ aracılığı ile M1 hücrelerine veya IL-4 aracılığı ile M2 hücrelerine farklılaşabileceği bildirilmiştir (112, 115). M1 makrofajları, proinflamatuvar mediyatörler salgılayarak istilacı patojenlerin temizlenmesini kolaylaştırırken, M2 makrofajları doku homeostazı, immün gözetim ve inflamasyonun düzeltilmesi için gereklidir. Makrofajlar, IL-10, TGF- β , glukokortikoidler, IL-4 ve IL-13 gibi çoklu araçlar ile uyarılma üzerine M2 fenotipine polarize edilir. M2 makrofajları, çöpçü reseptörü CD163'ün ekspresyonu, büyük miktarda anti-inflamatuar sitokin IL-10'un salgılanması ve düşük miktarda proinflamatuvar sitokin TNF- α ile karakterize edilir (116, 117).

Doku onarımı ornitin üreten M2 makrofajlar tarafından gerçekleştirilirken, saldırı ve fagositik aktivite, hücre çoğalmasını önleyen ve NO üreten M1 makrofajlar aracılığı ile gerçekleşir. M2 makrofajlar başlıca; M2a (IL-4 ve IL-13 ile aktive edilirler), M2b (İmmün kompleksler, LPS, TLR, IL-1 reseptör antagonisti ile aktive edilirler), M2c (Glukokortikoidler, TGF- β , IL-10 tarafından aktive edilirler) ve M2d (IL-6 ve adenozin tarafından aktive edilirler) olmak üzere dört grupta sınıflandırılmaktadır (118-121).

Diğer organlarda olduğu gibi, testiste de makrofajlar en bol bulunan heterojen immün hücre popülasyonunu oluşturur (122, 123). Bu dokuda yerleşik makrofajların heterojenliği, hücre yüzey marker ekspresyonuna, anatomik lokalizasyona, gen ekspresyon profillerine, ontogeniye ve doğum sonrası gelişime göre tanımlanmıştır. Makrofajların heterojenliğini, testis içindeki diğer hücrelere göre lokalizasyonlarının yanı sıra, majör histokompatibilite kompleksi sınıf II'nin farklı ekspresyonu ve yüzey markerleri sağlar (124, 125). Sıçanlarda yapılan çeşitli çalışmalar, testis makrofajlarının sitotoksik ve fagositik kapasitelerini koruduğunu, ancak proinflamatuvar işlevlerini büyük ölçüde azalttıklarını ve hatta immünosupresif aktivite sergilediklerini göstermiştir. Kanıtlar testis somatik hücreleri olan Sertoli ve Leydig hücrelerinin etkisine işaret etmekle birlikte, testis makrofaj popülasyonunun fenotipini kontrol eden lokal mekanizmalar henüz tam olarak bilinmemektedir. Testis içerisindeki immün yapılanma, gelişmekte olan erkek germ hücreleri için koruma sağlarken, kalitatif olarak normal iltihap tepkilerine ve enfeksiyona karşı korumaya izin verecek şekilde düzenlenir (126). Testisteki yerleşik tip makrofajların büyük popülasyonu, bu özelleşmiş immünolojik ortama aracılık etmede güçlü bir şekilde rol oynamaktadır. Stabil koşullar altında, interstisyel testis makrofajları (iT_M) ve peritübüler testis makrofajları (p_{TM}) baskındır (125). iT_M, CD64^{hi}MHC^{lo} ekspresyonu ile karakterizedir ve LH ve kan damarlarına bitişik bulunur. Buna karşılık, p_{TM}, CD64^{lo}MHC^{hi} ekspresyonu ile karakterizedir ve seminifer tübüllerin yanında bulunur (124, 125). Her TM alt popülasyonu ayrıca işlevsel uzmanlaşmanın göstergesi olan benzersiz bir transkripsiyonel profili ifade eder (125). Embriyolojik olarak vitellüs kesesi veya fetal karaciğer kökenli olan beyin, karaciğer ve akciğerde yerleşik makrofajlar; kan monositlerinden kayda değer bir

katkı olmaksızın erişkin dönemde lokal olarak kendini yenileyerek korunur (127). Bağırsak, deri ve pankreas gibi diğer organlarda makrofaj popülasyonları, kan monositlerinin yer değiştirmesiyle korunur (128). Bununla birlikte erişkin yaşamda dokuda yerleşik makrofajları oluşturan embriyonik progenitörlerin ve kan monositlerinin tam katkısı hala tartışmalıdır. Son yıllarda makrofaj popülasyonunun farklı organlardaki ontogenini ve fonksiyonel heterojenliğini ortaya çıkarmak için büyük ilerleme kaydedilmiş olmasına rağmen TM'nin kökenleri hala belirsizdir. iTM'nin embriyonik progenitörlerden kaynaklandığı düşünülürken, pTM'nin doğum sonrası kemik iliği kökenli olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir ancak, embriyonik progenitörlerin yetişkin TM'ye göreceli katkıları ve yetişkinlikte TM onarım mekanizmaları hala belirsizdir (125). Tüm yerleşik doku makrofajlarının farklı hücresel kökeni olmasına rağmen, organa girişiyle beraber dokuya özgü sinyaller, makrofajları dokuya özgü işlevlerle donatmak için polarize eder (113, 129). Hücresel kökenlerden ziyade iç faktörlerin yerleşik makrofaj fenotipini belirleyebileceği düşünülmektedir (130). Testis mikro ortamı, TM fenotipini ve fonksiyonunu yönetebilecek çok sayıda immünomodülatör molekül (testosteron, prostaglandinler, kortikosteron, aktivin ve 25 hidroksi-kolesterol (25HC)) içerir (122, 131). 25-HC ve aktivin gibi diğer moleküller de testiste büyük miktarlarda üretilir. Bu moleküllerin TM fenotipini etkileyip etkilemediği henüz aydınlatılamamıştır (131, 132).

TM'ları testisin immün ayrıcalıklı durumunu korumada etkili olduğu bilinmektedir (133, 134). Özellikle TM, gelişmekte olan germ hücrelerini pro-enflamatuar sitokinin zararlı etkilerinden korumaya yönelik enflamatuar uyarılara anergi gösterir. TM'nin bu bastırılmış enflamatuar yanıtının altında yatan mekanizmalar, toll like reseptör (TLR) sinyal genlerinin düşük ekspresyonu ve nihayetinde enflamatuar NF- κ B sinyal yolunu inaktive eden NF- κ B inhibitörü I κ Ba'nın bozulmuş ubiquitinasyonu ve degradasyonu olabilmektedir (133).

Testis makrofajları immünoregülatördürler, yüksek düzeyde IL10 salgılar ve TLR4 ligandı lipopolisakkarit (LPS) ile stimülasyonunu takiben düşük seviyelerde TNF- α ve nitrik oksit üretir (133, 134). Ek olarak TM, T hücre proliferasyonunu ve aktivasyonunu baskılar ve saf T hücrelerinin immünosupresif düzenleyici T hücrelerine (Treg'ler) dönüşümünü indükler (128, 134).

Makrofajlar, doğuştan gelen immün yanıtların aktivasyonunda ve dokuya özgü bir şekilde organ homeostazının sürdürülmesinde önemli olan hücrelerdir. Testisin interstisyel alanında bulunan testis makrofajları (TM), testis immün ayrıcalığının sürdürülmesi ile ilgili işlevleri olduğu varsayılan hücre popülasyonunu oluşturmaktadırlar. Testiküler interstisyel sıvıda bulunan testosteron, prostaglandin ve kortikosteronun, düşük TNF- α üretimi ile birlikte CD163 ve IL10 ekspresyonunu indükleyerek GM-CSF kaynaklı makrofajları immünosupresif makrofajlara polarize edebilmektedir. Wang ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada sıçan testiküler makrofajları çevreleyen testiküler interstisyel sıvının (İS), GM-CSF ile indüklenen M1'i M2 makrofaj fenotipine kaydırıldığını göstermişlerdir. TM'yi çevreleyen interstisyel sıvının, TM'nin fenotipini etkileyebilecek immünosupresif özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, İS'de bulunan immünosupresif moleküller zayıf bir şekilde karakterize edilmektedir. TM'ların İS-polarize M2 makrofajlarının özellikleri olan CD163'ün artmış ekspresyonu, yüksek IL-10 sekresyonu ve düşük TNF- α sekresyonu gibi özellikler kazandığını ve polarize makrofajların, immünosupresif düzenleyici T hücrelerinin genişlemesini indükleyerek immüno-düzenleyici fonksiyonlar sergilediğini bildirmişlerdir. Ayrıca kortikosteronun İS'de bulunan başlıca immünosupresif molekül olduğunu, testis ortamında bulunan kortikosteronun TM'nin immünosupresif fonksiyonunu ve fenotipini şekillendirdiğini ve bu steroidin testisin bağışıklık ayrıcalığında önemli bir rolü olabileceğini bildirmişlerdir (122).

Testis makrofajlarının immünoregülatör fenotipi, normal testis homeostazını korumak için gereklidir. Yüksek TNF- α üretimi LH işlevini bozar ve KTB'ni parçalayarak germ hücresini nihayetinde spermatogenezi bozan sitotoksik inflamatuvar sitokinlere maruz bırakabilir (135). Yüksek NO üretimi ayrıca LH fonksiyonunu ve dolayısıyla steroidogenezi olumsuz yönde etkileyebilir (136).

Testis makrofajları immün sentinel hücreler olarak hareket etmenin yanı sıra, aynı zamanda testiste homeostazı sürdürmektedir. 25HC üreterek steroidogenezi desteklemek, koloni uyarıcı faktör 1 (CSF1) ve retinoik asit (RA) biyosentezini destekleyerek spermatogenezi kontrol etmek, kan damarı ve

spermatik kord oluşumuna yardımcı olarak testis embriyonik gelişimine rehberlik etmektedirler (124, 131). Akut LPS stimülasyonunu takiben veya adjuvanlar veya patojenlerin indüklediği testis inflamasyonu (epididimo-orşit) durumlarında TM sayısı artar (137). LPS'nin neden olduğu iltihaplanma sırasında, 72 saat sonra düzelen, testise geçici bir monosit akışı meydana gelir; buna karşılık TM sayısında değişiklik gözlenmemiştir (137). Mekanizması tam aydınlatılamamakla beraber testis makrofajları inflamasyon sırasında onarıma yardımcı olmaktadır (138). TM (CD68+CD163-) ve (CD68+CD163+) alt kümelerinin sayısı, bağışıklama döneminin sonundan şiddetli orşit aşamasına kadar kademeli olarak artar, yerleşik CD163 +TM sayısında küçük değişiklikler meydana gelir (139). Aynı zamanda, TM, büyük miktarlarda proinflamatuvar mediyatörler olan TNF α , IL6, IFN γ ve NO üretirken, IL10 ve GM-CSF'yi üretmezler (139-141). Yerleşik CD163 + TM değil, infiltratif makrofajlar IL6 eksprese eder, MHCII'yi upregüle eder ve TNF- α ekspresyonunu azaltır (139). Hem sızma (CD68 + CD163-) hem ara (CD68 + CD163 +) hem de yerleşik (CD68-CD163+) TM, epididimo-orşit sırasında iNOS ekspresyonunu artırmaz (141). Epididimo-orşit sırasında TM tarafından NO üretimindeki artış, esas olarak, büyük oranda infiltrasyon ve iNOS eksprese eden intermediate TM'den kaynaklanır; yerleşik TM, NO üretimine çok az katkı sağlar. Bu olaylar, diğer immün ve nonimmün hücre fonksiyonlarındaki değişikliklerin yanı sıra, sonuçta testiküler immün ayrıcalığı, spermatogenez ve steroidogenezi bozar (142). Bozulmuş TM fonksiyonu sonrası, hipospermatogenez ve Sertoli cell only sendromu oluşup bunlara bağlı infertilite gözlenmektedir. Bu hastalarda TM'den üretilen proinflamatuvar sitokinler olan, TNF α , IL1 α ve IL1 β artış görülmektedir (143, 144). Aktif makrofajların interstisyel infiltrasyonu ve TNF α üretimi, testis torsiyonu gibi diğer testis hasarı modellerinde de ortak bir özelliktir (145, 146).

Dendritik hücreler (DH) "profesyonel" antijen sunan hücrelerdir ve adaptif immün sistemin hücresel bir bileşenidir. DH; klasik DH, plazmasitoid DH ve kemik iliğindeki hematopoietik kök hücrelerden kaynaklanan monosit köken alan DH'yi içeren heterojen bir popülasyondan oluşur. DH, lenfoid ve lenfoid olmayan dokularda bulunur ve her ikisi de birçok çevresel sinyale bağlı olan T hücre aktivasyonu ve tolerans indüksiyonunda rol oynar (147). DH, fizyolojik

testis mikroçevresinde toleransı benimsedikçe testisin immün ayrıcalık durumunu destekler (138). Normal testisten izole edilen DH, immatür yerleşik DH'nin bir markeri olan kemokin reseptörü CCR2'yi de ifade eder. Sertoli hücreleri, bu immatür DH'nin tolerojenik DH'ye farklılaşmasını teşvik edebilmektedir (148). İmmünizasyon bölgesine drene olan lenf nodlarında, DH'ler yüzeylerindeki MHCII'ye bağlı antijenleri sunarlar, daha sonra naif T hücrelerini uyarır ve onları efektör fonksiyonlara doğru polarize ederler. DH'lerle uyarılan T hücreleri testise göç eder, burada antijen sunan hücreler ve somatik hücreler tarafından salgılanan lokal kemokinler (CCL2 ve CCL3) tarafından bölgeye çekilir ve doku hasarına neden olan testis inflamasyonuna katkıda bulunurlar (149, 150). Çevresel sinyallere bağlı olarak, T hücreleri, inflamasyona veya dominant immünolojik toleransa yol açan zıt fonksiyonlara sahip efektör veya düzenleyici alt tiplerine dönüşür. Normal sıçan testisinde bulunan lökositlerin akış sitometrik analizinde, bu hücrelerin yaklaşık % 25'i CD3⁺ T hücreleridir ve CD8⁺ T hücreleri, CD4⁺ T hücrelerinden 4 kat daha fazladır. Çoğu CD25⁺ T hücresi, CD8⁺ alt kümesinde bulunur (151). Tüm alt kümeler TNF α , IFN γ ve FasL gibi proinflamatuvarı salgılar. CD4⁺ ve CD8⁺ T hücresi alt kümeleri IFN γ 'yi salgımlarken, CD8⁺ T hücreleri FasL ve TNF α 'nın ana üreticileridir. Testis T hücreleri bazen normal koşullar altında IL4 eksprese eder (152).

Normal testiste Foxp3 + Treg'ler üretilmektedir. Sıçan testisinde, CD4⁺ ve CD8⁺ T hücresi alt gruplarındaki hücrelerin ~% 2'si CD25 ve Foxp3'ü eksprese eder (151). Bu hücrelerin çoğu hafıza hücreleridir ve TFG- β üretirler. Testiküler lenf nodlarından izole edilen CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg'lerin fonksiyonlarına baktığımızda, bu hücreler spermatik antijenlere karşı güçlü bir proliferatif yanıt üretir ve geleneksel T hücre proliferasyonunu baskılayıcı etki gösterirler (153). Bunlar da gösteriyorki, Tregler, seminifer tübüllerden antijenler tarafından in vivo olarak aktive edilir. Seminifer tübüllerden çıkan germ hücresi antijenleri, interstisyuma girer ve tüm germ hücre neo-antijenleri Treg'leri indükler. Böylece testiküler lenf nodlarındaki Treg'ler genişler, burada oto-reaktif T hücrelerinin bazal ve kalıcı baskılanmasını sağlayabilir, böylece tolerojenik ortamı korurlar (154). İnflamatuvar koşullar altında, patojenik T hücreleri, dengeyi otoimmün yanıt lehine değiştirerek Treg'lerin baskılayıcı mekanizmalarını alt edebilir (151).

İnflamatuvar ortamdaki sitokinler, Treg'leri in vivo inhibe edebilir ve inflamasyon bölgelerindeki işlevlerini engeller (155).

1.3.2.2. Lenfositler

Lenfositler edinsel bağışıklığın hücreleridir. Erişkinlerde lenfositik kök hücreler kırmızı kemik iliğinde yer alır; ancak major lenfoid serilere ait hücreler iki farklı primer lenfoid organda olgunlaşır ve işlev kazanırlar. Bu hücrelerden olan, B lenfositler kemik iliğinde kalır ve farklılaşırlar. T lenfositlerin öncülleri ise timusa taşınırlar. Bu olgunlaşma evresinden sonra B ve T lenfositler dolaşım sistemiyle periferik sekonder lenfoid organlara (MALT, dalak, lenf düğümleri) ulaşırlar.

Lenfoid doku, retiküler bağ doku ve bu alanda yerleşim gösteren çok sayıda lenfositten oluşur. Lenfositler; belirgin bazofilik çekirdek ve küçük sitoplazmaya sahip oldukları için lenfoid dokular hematoksilen ve eozin boyalı kesitlerde koyu mavi görüntü verirler. Ayrıca lenfoid doku lenfositlere ek olarak ASH'leri ve plazma hücrelerini de içerirler. Lenfositlerin çoğu birbirine morfolojik olarak çok benzemektedir, bu nedenle çeşitli yüzey proteinleri ('cluster of differentiation' CD markerları) immünhistokimyasal yöntemler B ve T hücrelerinin alt kümelerinin tanınmasına olanak sağlamaktadır. B ve T lenfositlerinin yüzey reseptörleri antijenlere karşı farklı cevaplar verilmesine neden olurlar (9). Vücutta lenfositler fonksiyonel olarak dörde ayrılmaktadırlar; B lenfositler, T lenfositler, Doğal öldürücü hücreler ve Doğal öldürücü T hücreler (18).

1.3.2.2.1. B Lenfositler

Lenfoid progenitörler kemik iliğindeki pluripotent kök hücrelerden ortaya çıkar ve B lenfositlere dönüşürler ve kemik iliği içinde olgunlaşırlar. Olgun B hücreleri sekonder lenfoid organlara (örneğin, lenf düğümleri ve dalak) göç ederler (87). Bu hücreler, humoral immün sisteme ait hücreler olup immün sistemdeki görevlerini ürettikleri antikor adı verilen proteinler aracılığıyla gerçekleştirirler. Salgılanan antikorlar dolaşıma, ekstrasellüler sıvıya, gastrointestinal ve solunum yolları gibi mukozal organların lümenlerine verilir.

Antikorlar ulaştığı alanlarda immün cevap oluştururlar (82). B hücreleri, pro B hücresi olarak olgunlaşmaları sürecine girerler ardından, ardından pre B hücresi I'e dönüşür daha sonra pre B hücresi II, immatür B hücresi, matür B hücresi ve en son plazmosit veya hafıza B hücresi olarak bu süreci tamamlarlar (87). Antijen uyarımının ardından sekonder lenf foliküllerinin germinal merkezlerindeki aktif B lenfositleri hızlı bir şekilde çoğalmaya başlarlar. Bu şekilde antijenle karşılaşmalarının ardından aktive olan B lenfositleri antikor salgılayan plazma hücrelerine dönüşerek humoral immün yanıtı başlatırlar. Bazı yeni yapılanmış B hücreleri ise uzun ömürlü bellek B hücreleri olarak kalırlar. Edinsel bağışıklığın temel özelliği olan uzun ömürlü bellek B lenfositlerin oluşumu sayesinde aynı antijenle tekrar karşılaşıldığında çok hızlı bir yanıt verilir (9, 12, 85). B hücrelerinin reseptörleri antijenlere direk bağlanan reseptörlerdir. B lenfositlerin yüzeyinde antijen bağlanma bölgesi olan Ig M veya Ig D monomerleri bulunur ve her B hücresinde yaklaşık 150.000 B hücre reseptörü (BCR) bulunur. BCR'ler serbest halde bulunan ya da antikora bağlı antijenleri bağlar. Endozomlarda yıkılan antijenlere ait peptidler, B hücrelerinin MHC sınıf II moleküllerinde sunulur. Yardımcı T hücresinin bu B hücrelerine bağlanması sonucu immunoglobulin genlerinde rekombinasyon oluşur ve hücre çoğalması uyarılır (9) B lenfositlerine özel CD markerları CD9, CD19, CD20 ve CD24'tür (18, 156). Birçok B hücresi tipi vardır; en çok bulunan B hücre formları B-1 ve B-2'dir. B-2 B hücreleri vücudun her yerinde bulunan sayıca en fazla olan hücrelerdir. Kemik iliğinde üretilmeleri ve aktif olmaları için T hücreleri ile etkileşimleri gerekir. B-1 B hücreleri, solunum ve sindirim sistemlerinde sınırlı olan ve sayıca çok az olan B hücreleridir. Doğal ve edinsel immün sistemler arasında geçiş yaparlar (12). B-1 B lenfositler hücre yüzeylerinde CD5 molekülü taşırlar (157). B hücreleri ASH popülasyonunun üyeleridir, epitoplari sınıf II MHC molekülleri ile etkileşir ve Th1 hücrelerine sunum gerçekleştiriler. ASH olarak hareket ettiklerinde, Th1 hücrelerini çoğaltan ve NK hücrelerini aktif hale getiren bir sitokin olan interleukin-12'yi sentezler, aynı zamanda plazma hücrelerine farklılaşır ve B bellek hücrelerinin popülasyonu da artar (12, 156).

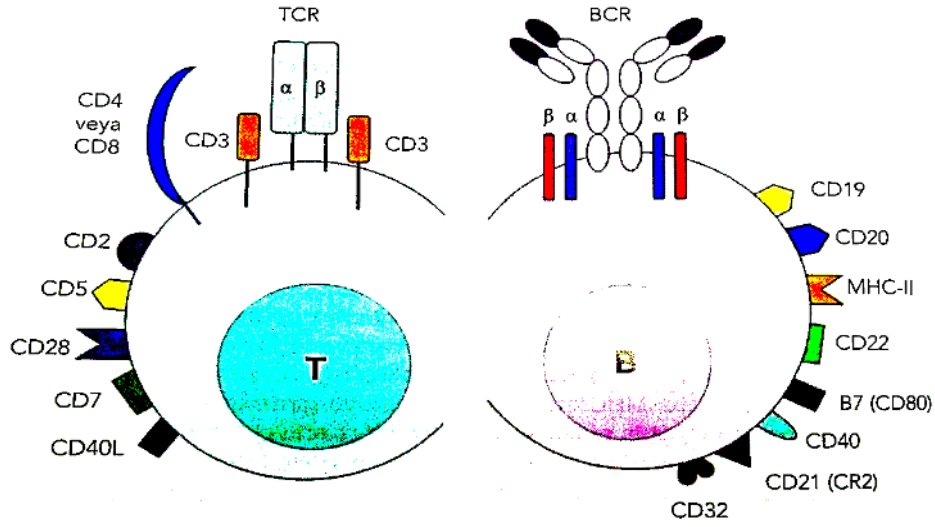
1.3.2.2.2. T Lenfositler

Lenfoid progenitörler, kemik iliğindeki pluripotent kök hücrelerden kaynaklanır ve T lenfositlere dönüşürler (87). T hücre farklılaşması, olgunlaşması ve seçimi timüs içinde gerçekleşir. Bu hücreler kan lenfositlerinin %75'ini oluşturan, uzun ömürlü grubudur (9). Olgunlaşma sürecinde, fonksiyonel T hücre reseptörü oluşumu ve CD4 ve/veya CD8 koreseptörlerinin ekspresyonu gerçekleşir. Timusta iki tür seçim gerçekleşir. Pozitif seleksiyonda; MHC I veya II ile etkileşime girebilen T lenfositler seçilir, seçilmiş T lenfositler timik korteksten medullaya doğru göç ederler. MHC I veya II ile etkileşime girmeyen T lenfositler apoptozise uğrayarak yok edilirler. Negatif seleksiyonda ise; pozitif seleksiyondan kurtulan ancak "kendi" peptidleriyle etkileşime giren T lenfositler apoptozis yoluyla ortadan kaldırılır; böylece self toleransa izin verilmiş olur. T lenfositler, antijen sunan hücre yüzeyinde sunulan işlenmiş antijenleri MHC molekülleri aracılığıyla tanır.

T hücre reseptörleri(TCR), immünoglobulin süper ailesinin 2 peptid zinciri tarafından oluşturulmuştur; bunlar değişken ve sabit bölgeler içerir. Dolaşımdaki T lenfositlerin % 95'i α ve β zincirlerinden, % 5'i ise γ ve δ zincirlerinden oluşur (12, 87).

T hücrelerinin en önemli yüzey markerları şunlardır:

1. Antijeni tanıyan reseptör (TCR) ve sinyal iletim sistemi (CD3) kompleksi
2. MHC molekülleriyle ilişkiyi sağlayan CD4 veya CD8 ko-reseptörleri
3. T lenfositlerinin diğer hücreler ile ilişkiye girmesini, T hücre aktivasyonunu, hücreler arası etkileşimin güçlendirilmesini ya da hedef hücrenin öldürülmesini kolaylaştıran yardımcı proteinler (CD45RA, CD28, CD40L, FasL gibi)
4. T hücrelerinin ASH veya hedef hücreler ile ilişkiye girmesini sağlayan ve aktivasyonu başlatan adezyon molekülleri (LFA-1, CD2 gibi)
5. T hücre aktivasyonu yapan ve fonksiyonlarını düzenleyen sitokinlerin bağlanması için sitokin reseptörleri (IL-2R gibi) (85) (Şekil 12).



Şekil 12. T ve B lenfositlerinin karakteristiik bazı yüzey reseptörleri (85).

1.3.2.2.2.1. Yardımcı T Lenfositler

Karakteristik yüzey belirteci CD4 molekülüdür (9). Sınıf II MHC molekülleri tarafından sunulan antijenleri tanırlar (87). Bağlanma ile aktive olan yardımcı T hücreleri, B hücrelerinin plazma hücrelerine farklılaşmasını uyarır, fagositik olmaları için makrofajları aktive eder, sitotoksik T lenfositlerini (CTL'ler) aktive eder ve inflamatuvar reaksiyonun birçok kısmını indükler, bu yolla sitokinleri üreterek immün yanıtı yardım ederler (9).

İmmün cevaptan sorumlu B lenfositler, makrofajlar ve CD8 T lenfositler gibi diğer hücrelerin düzenlenmesinden sorumludurlar. Th'ler aktivasyonları sırasında ürettikleri sitokinlere göre adlandırılırlar;

1. Th1 lenfositleri: IFN- γ ve IL-2 üretir; fagosit aktivasyonunda ve opsonize edici antikor üretiminde görevlidirler, lokal inflamatuvar reaksiyonları ve gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarını attırır ve hücrel immün yanıtı sorumludurlar.
2. Th2 lenfositleri: IL-2 ve IL-4 uyarımıyla aktive olup IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13 üretimiyle sistemik yanıtı destekler; B lenfosit aktivasyonunda, B lenfosit farklılaşmasında, antikor üretiminde ve eozinofil aktivasyonunda fonksiyon görürler yani humoral immün yanıtı sorumludurlar ayrıca inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların gelişimini sınırlandırabilir.

3. Th17 lenfositleri: IL-6, dönüştürücü büyüme faktörü –beta (TGF- β) ve IL-23 tarafından uyarılıp IL-17, IL-22, IL-26, M-CSF, GM-CSF üretir; kemokin üretimi ve inflamatuvar sitokin üretiminde etkilidirler ayrıca otoimmünitenin patogenezinin sorumluları ve inflamatuvar yanıtta da rol oynayan Th17 hücreleri antibakteriyal yanıtların güçlendirilmesinde de görevlidirler (85, 87).

1.3.2.2.2. Sitotoksik T Lenfositler

CTL'ler (sitotoksik T lenfositler) hücre zarlarında CD3 ve TCR'lere ek olarak CD8 moleküllerine sahiptir. Yabancı hücrelerin, tümör hücrelerinin hücre zarlarında sunulan epitoplari hem de virüsler tarafından değiştirilmiş hücreler ve bu hücrelerin plazmalemmaları üzerinde sunulan viral epitoplari tanirlar ve bu hücreleri öldürürler (12). Hedef hücre yüzeyindeki epitoplari, MHC I molekülleri tarafından CTL'ye sunulurlar (87). Bu hücrelerin öldürülmesi, perforin / granzim yolu veya Fas / FasL yolu aracılığıyla iki yoldan biriyle gerçekleştirilir: Ayrıca öldürücü T hücreleri olarak adlandırılan CD8+ hücreler antijen kaynağı hücreye bağlanarak onları apoptozu tetikleyen perforin ve granzimleri salgılayarak ortadan kaldırırlar ve bu olaya hücresele bağışıklık denir (9, 12, 18). Sitotoksik CD8+ hücreler ayrıca tümör immünolojisinde ve allograftların reddinde de önemli bir rol oynarlar (18).

1.3.3.2.2.3. Düzenleyici T Lenfositler

T reg (düzenleyici T Lenfositler) hücreleri, hücre zarlarında CD4 molekülleri taşırlar ve immün sistemi baskırlar (12, 82). İki tür T reg hücresi vardır, doğal T reg hücreleri ve indüklenebilir T reg hücreleri ve her ikisi de plazma membranlarında CD4 molekülleri bulunur (12, 85). Doğal T reg hücreleri (nT reg hücreleri) timusta gelişir ve plazma zarlarında CD25 ve FoxP3 molekülleri bulunur. Bu nT reg hücreleri timustan ayrılır ve TCR'leri bir ASH veya efektör T hücresine bağlandığında, IL-10 ve TGF salgılayarak immün cevabı baskırlar. Treg hücreleri IL-2 ve TGF- β uyarımı ile oluşur ve salgıladıkları sitokinlerle Th1 ve Th2 hücrelerini inhibe ederek immün yanıtları düzenlerler. Çoğu CD4 (CD4+ CD25+) bir kısmı ise CD8 (CD8+ CD25+) eksprese etmektedir. Treg hücreleri vücudun kendi antijenlerine (otoimmün) cevapların

gelişmesini önledikleri kadar zararsız antijenlere karşıda cevap oluşumunu önleyerek immünolojik toleransı oluştururlar (9, 12, 18, 82). İndüklenebilir T reg hücreleri (TH3 hücreleri olarak da bilinir) timusun dışından kaynaklanır ve naif T hücrelerinden türetilir. Aynı zamanda hücre zarlarında CD4, CD25 ve FoxP3 bulundurlar ve TH1 hücrelerinin oluşumunu engelleyen ve böylece bağışıklık tepkisini baskılayan IL-10 ve TGF-gibi sitokinler salgırlar. Bu iki tip T reg hücresi benzer işleve sahiptir ve otoimmün cevabı baskılamak için uyum içinde birlikte hareket ederler (12).

1.3.2.2.4. γ/δ T Lenfositler

Bu lenfositlerin T hücre reseptörleri (TCR), γ ve δ zincirlerini içerir. Bu hücreler epidermis ve mukozal epitele göç ederek intraepitelyal yerleşim gösterirler ve sekonder lenfoid organları yeniden dolaşmazlar. Bu hücreler intraepitelyal lenfositler olarak bilinir (9).

1.3.2.2.3. Doğal Öldürücü Hücreler

Doğal öldürücü (NK) hücreler, tümörlere ve viral enfeksiyona karşı doğuştan ve adaptif immün cevapta önemli rol oynayan, kemik iliği kökenli ve büyük granüllü efektör lenfositlerdir (87, 158). Diğer lenfositler gibi NK hücreleri de çoğu bağ dokuda az sayıda bulunurken kronik enflamasyon alanında çok sayıda bulunan hücrelerdir (12). T ve B lenfositlerinden farklı yüzey markerları bulunmamaktadır (9). Bunlar, antikor ve MHC yokluğunda sitotoksik mekanizmalarla hedef hücreleri öldürmesini sağlayan önemli sitokin olan IFN) - γ 'nın potansiye üreticileridir (159). NK hücreleri periferik kan lenfositlerinin % 5-15'ini oluştururlar ve periferik dokularda yerleşim gösterirler (9, 85). NK hücreleri salgıladıkları kemokinler ve sitokinlerle çevre hücrelerle iletişim kurarlar (160). NK hücreleri böbrek şekilli bir çekirdekçiğe sahiptir ve sitoplazmik granüllere sahip olduklarından ışık mikroskobunda kolaylıkla görülebilir ve geniş granüler lenfositler olarak adlandırılırlar. Spesifik yüzey markırları CD16, CD56 ve CD94 olan heterojen bir popülasyondur (18).

NK hücreleri, hedef hücre ile direkt temas ederek granüllerinde bulunan sitotoksik olan perforin ve granzimlerini salgırlar ardından hücredeki apoptotik yolları indükleyerek hücre ölümünü gerçekleştirirler (18, 87, 158).

1.3.2.2.4. Natural Killer T Hücreleri

Natural Killer T Hücreleri (NKT) hücreleri, hem T hücrelerinin hem de NK hücrelerinin özelliklerini taşıyabilen heterojen bir T hücreleri grubudur. Tümörlere ve bulaşıcı hastalıklara karşı hücre aracılı immün yanıtı sağlarlar ayrıca otoimmün hastalıklar ve allogreft reddi ile ilişkili hücre aracılı immün cevabı inhibe ettikleri için immün düzenleyici özellikler gösterirler (161).

İmmünolojik yeterliliklerini timusa kazanırlar. CD4 eksprese edebilen bu hücrelerin çoğunda CD4 ve CD8 molekülleri (CD4- CD8-) bulunmamaktadır. NK hücrelerinin aksine, NKT hücrelerinde yüzey markerı olarak CD1d, TCR'ler, pan T marker CD3 veya yüzey immünoglobulin (Ig) B hücresi reseptörlerini eksprese eder (162). Aktive olan NKT hücreleri yüksek düzeyde IL-4, IL-10 ve IFN- γ üretir ve salar. Böylece enfeksiyona karşı oluşan ilk yanıtlara destek olurlar (12, 85).

1.3.2.2.5. Cluster of Differentiation (CD) Markerları

Lenfositler görünüşte birbirlerinden farksızdırlar. Lenfositler arasında farklılığı oluşturan ise işlevleri, köken aldığı hücre dizisi ve fenotipleridir. Bu nedenle karmaşık biyolojik cevaplar ve etkinlikler gösterirler. Bu hücreler monoklonal antikor panelleri ile saptanabilen cluster of differentiation (CD) adı verilen yüzey proteinleri ile T ve B hücreleri olarak birbirlerinden ayrılırlar. Bu şekilde bir antikor kümesi veya grubu tarafından tanınırlar ve TCR'ler CD numaralama sistemiyle tasarlanmış bir başka yüzey proteiniyle antijene bağlanırlar (9, 82).

1.3.2.3. Antijen Sunucu Hücreler

Mononükleer fagositik sistemin hücrelerinden olan ASH'ler özelleşmiş hücre grubudur ve lenf organlarındaki tüm makrofaj tiplerini ve özelleşmiş dendritik hücreleri kapsar (9). Dendritik hücreler, makrofajlar ve B hücreleri antijen sunumunu gerçekleştiren hücrelerdir (163). Ayrıca antijen sunan hücreler içerisinde karaciğerdeki perisinüzoidal makrofajlar olan kupffer hücreleri, epidermisteki langerhans hücreleri, dalak ve lenf düğümlerindeki dendritik hücreler de sayılabilir (18). Bu hücreler antijenleri hücre içine alırlar ve antijenleri

küçük ünitelere ayırırlar. Antijenler ASH'lerde MHC molekülleri ile birleşerek hücre yüzeyine eksprese edilirler daha sonra TCR'ler tarafından tanınırlar ve T hücre aktivasyonu gerçekleşir (85).

1.3.2.4. Dendritik Hücreler

Dendritik hücreler (DH), istilacı mikroorganizmalara cevap için ve adaptif immün cevap için çok önemlidir. DH'ler ayrıca anti-tümör cevabın anahtar hücresel bileşenleridir. Vücudun sağlıklı dokusuna ve içinde yaşayan sayısız ortak mikroorganizmaya tolerans için DH ve lenfosit arayüzü sıkı bir şekilde düzenlenmelidir (164).

İlk immünolojik savunmayı sağlamak için, DH'lerin, birçok alt grubu bulunmaktadır (165). Konvensiyonel (c) DH'ler güçlü ASH'lerdir ve ikiye ayrılırlar. cDH1 alt kümesi, hücre ile ilişkili antijenlerin CD8⁺ T hücrelerine sunulmasında ve bir tip I immün cevabın oluşmasında etkilidir. Buna karşılık cDH2 alt kümesi, MHCII yoluyla CD4⁺ T hücre cevabını aktive etmektedir. cDH'lerin aksine, plazmasitoid (p) DH alt kümesi nispeten zayıf ASH'lerdir ve tip I interferonların (IFN-I) hızlı üretimini gerçekleştirmektedir (166). Bazı cDH'ler, monositik öncüllerden de türeyebilir. Bunlara monositlerden türetilmiş (mo) DH'ler denir ve hem insan hem de farede mukozal dokularda bulunurlar, ancak genel olarak kararlı durumda azdır ve tipik olarak enflamatuar ortamlarla ilişkilidirler (167).

Dendritik hücreler, MHC sınıf II (HLA-DR) moleküllerini yüksek düzeyde eksprese ederler ve T lenfositlerine antijen sunarlar (85). Lenf düğümlerinde dendritik hücreler parakorteks gibi genellikle T lenfositlerden zengin alanlarda lokalize olmuşlardır (18). Foliküler dendritik hücre (FDH)'ler ise tamamen farklı özellik gösteren sekonder lenfoid organlarda B hücrelerinden zengin foliküllerde yerleşik olarak bulunur ve MHC-II molekülü içermeyen gruptur (85). FDH'ler germinal merkezlerdeki B lenfositler arasına uzanan ince dallanmış sitoplazmik uzantılara sahiptirler (18). B lenfositler tüm ikincil lenfoid dokularda, dağınık foliküler dendritik hücrelerle etkileşim halindedir. FDH'ler mezenkimal kökenlidir ve uzun filamentöz yapıya sahiptir. FDH hücrelerinin yüzeyleri kompleman proteinleri ve immünoglobulin Fc bölgeleri için reseptöre bağlı

antijen-antikor kompleksi ile kaplıdır (9). FDH'ler, B hücre foliküllerinin ve germinal merkez reaksiyonunun organize edilmesinde önemli bir role sahiptir (168).

1.3.2.5. Granülositler

Granülositlerin çekirdeği lobülerdir ve sitoplazmik granüllerinin boyanma paternine göre; nötrofiller (polimorfonükleer lökositler; PMNL), eozinofiller ve bazofiller olmak üzere üç gruba ayrılırlar (9, 85). Nötrofiller G-CSF'nin etkisiyle, monosit ve makrofaj M-CSF'nin etkisiyle, eozinofiller IL-5'in etkisiyle farklılaşmaktadır (169). Granülositlerin esas yüzey markerları CD15'tir (85). Tam olarak matür granülositlerin enerji metabolizmaları glikoliz ile sağlanır, mitokondri sayıları oldukça azdır ve yaşam süreleri birkaç gün ile sınırlıdır (9).

Kanda en fazla bulunan lökosit grubu nötrofillerdir, ortalama olarak tüm lökositlerin %50- %70'ini oluştururlar (9, 85). Nötrofiller; lobüler çekirdekli ve kan yaymalarında 12-15 µm çapındadır (12). Nötrofillerin sitoplazmalarında; mikroorganizmalara karşı savunmayı oluşturan sitoplazmik granüller bulunur. Bunlardan azurofilik (primer) granüller; proteazları (elastaz, katepsin G vb.) ve miyeloperoksidaz (MPO), lizozim, defensinler gibi antibakteriyal proteinleri içerir. Spesifik sekonder granüller ise; kolejenaz, lizozim, NADPH oksidaz gibi maddeleri içerir (9, 85). Kandaki yarı ömürleri 6-8 saattir. Bağ dokusunda 1-4 gün aktivitelerini sürdürdükten sonra apoptozla ölürlar (9). Nötrofiller kemotaksi ile enfeksiyon bölgesine ulaşan ilk hücre grubudur, yabancı organizmaları ve diğer enfeksiyöz ajanları tanıyabilen ve bağlayabilen çeşitli reseptörleri içerirler (12). Bu ajanların bazıları nötrofillere doğrudan bağlanırken diğerleri ise nötrofillere bağlanabilmek için opsonize edilirler (12, 18). Nötrofiller antijeni tanıyıp bağlandığında fagositoz başlar. Nötrofillerin pseudopodları antijenin fagositozunu gerçekleştirir ve fagozom keseleri oluşturur. Spesifik ve azurofilik granüller fagozom zarı ile kaynaşır ve azurofilik granüllerin lizozomal hidrolazları antijenik maddeyi sindirir. Nötrofillerin içerisinde kalan sindirim sonrası atıklar ekzositoz ile hücre dışına atılır (18).

Bazofiller; gelişimi ve olgunlaşması kemik iliğinde gerçekleşir ve kandaki lökositlerin %1'den azını oluşturan granülositlerdir (9). Bazofillerin çapı 12-15

µm'dir. Çekirdekleri iki loblu, sitoplazmaları ise iki tip granül içerir. Bunlardan spesifik granüller; histamin, heparin, heparin sülfat, lökotrienler, IL-4, Eozinofil Kemotaktik Faktör (ECF) ve IL-13 gibi maddeleri içerir (18, 169). Azurofilik granülositler, bazofillerin lizozomlarıdır ve diğer lökositlerdekilere benzer şekilde çeşitli lizozomal asit hidrolazlar içerirler (18). Hem bazofil hem de mast hücreleri immünoglobulin E için yüzey reseptörlerine sahip olup bazofillerin plazma zarlarında bu antikorlar için çok sayıda yüksek affiniteli Fc reseptörleri bulunur (18, 81).

Eozinofiller; kemik iliğindeki hemotopoetik progenitör hücrelerden köken alırlar ve kemik iliğinde olgunlaşırlar (87). Kemik iliğinden periferik kana oradan da bağ dokusuna salınırlar. Eozinofillerin çekirdekleri iki loblu olup sitoplazmalarında ise büyük spesifik ve azurofilik granüller içerir (18). Spesifik granüller; histaminaz, arilsülfataz, kollajenaz ve katepsinler ile argininden zengindir ayrıca diğer enzimler ve toksinlerle birlikte parazitik solucanlar ya da helmintleri öldüren Majör Bazik Protein (MBP) içerir (18, 87). Azurofilik granüllerde lizozomal asit hidrolazlar, parazitlerin yok edildiği ve antijen-antikor komplekslerinin hidrolizisinde işlev gören diğer hidrolitik enzimler bulunur (18). Olgun eozinofiller farklı tiplerde tamamlayıcı reseptörleri eksprese eder ve Fcγ reseptörlerini (CD16 ve CD32) ile Fcε reseptörlerini bulundurlar (169). Astım hastalarının akciğer dokusunda olduğu gibi alerjisi ve bağırsaklarında parazitler enfeksiyonu olan kişilerin kan örneklerinde eozinofil sayısı genellikle yüksektir (13, 23). Alerjik reaksiyon bölgelerinde bazofiller ve mast hücreleri tarafından salınan kemoatraktanlar vasıtasıyla eozinofiller bölgeye gelirler ve histamin gibi enzimleri salarak alerjik reaksiyonu oluştururlar (12).

1.3.2.6. Mast Hücreleri

Mast hücreleri (MH), kemirgenlerde kan damarlarının yakınında ve / veya insanlarda interstisyel kompartmanda subalbuginea alanı içinde lokalize olan heterojen fenotiplere sahip dokuda yerleşik immün hücrelerdir (170). Kemik iliğindeki miyeloid kök hücreden köken alan bol miktarda sitoplazmik granüller içeren hücreler olup, dolaşımda progenitör hücreler olarak bulunurlar; olgunlaşmaları ve farklılaşmaları ise dokuda gerçekleşir (12, 82). Mast hücreleri

vücudun dış ortamla ilişkide bulunduğu yerlerde örneğin; deri, solunum sistemi ve sindirim sisteminde çok sayıdadır. Mast hücreleri derideki ve mezenterlerdeki küçük kan damarlarının yanında (perivasküler mast hücreleri), sindirim, solunum kanallarını döşeyen dokuda (mukozal mast hücreleri) bulunup bu alanlarda gözcü rol oynayan ve uzun ömürlü hücrelerdir (9, 82, 85). Mast hücreleri 7-20 µm çapında, merkezde yer alan yuvarlak nukleuslu, yüzeyleri katlantılı olan hücrelerdir (9, 12). Sitoplazmaları kaba yoğun boyanan metakromatik granüllerle doludur. Bu nedenle mast hücrelerinin boyutları sitoplazmasında bulunan granüllerin sayı ve yoğunluğuna bağlı olarak değişir. Bu granüller elektron yoğun ve heterojendir, çapları 0.3-2.0 µm büyüklüğündedir (9, 12, 171). MH, doğuştan gelen bağışıklık, doku homeostazı, remodeling ve adaptif bağışıklıkta çeşitli rollere sahiptir (172).

Tip 1 hipersensivite reaksiyonlarında yani alerjik reaksiyonlarda anahtar bir rol oynarlar (87, 173). Mast hücrelerinin yüzeyinde IgE antikörlerinin yüksek affinite ile bağlandığı FcεR reseptörleri bulunur. Alerjik reaksiyonlarda rol oynayan IgE antikörlerinin bu yüzey reseptörlerine bağlanması sonucunda mast hücrelerinin granülleri boşalır (85) (Tablo 2).

Otoreaktif T hücreleri ile doğrudan etkileşimler MH'yi aktive ederek degranülasyonu ve sitokin üretimini indükleyebilmektedir. İnflamasyon sırasında (defektif spermatogenez, varikosel, infertilite, epididimorşit ve testis torsiyon modelleri olan hastalarda olduğu gibi) MH sayısı artar. Burada serin proteaz ve triptaz seminifer tübüllerin fibrozisini indükleyerek fibroblast proliferasyonunu ve kollajen sentezini arttırır. MH ayrıca matriks metaloproteinazları (MMP) ve doku MMP inhibitörlerini aktive ederek fibrozu düzenleyebilir (174). Epididimorşit patolojilerinde, MH esas olarak seminifer tübül çevresinde ve özellikle granülomların çevresinde birikir. Bu MH tarafından salınan triptaz, hücre proliferasyonunu ve sitokin üretimini indüklemek için peritübüler hücreler ve TM tarafından eksprese edilen proteinaz ile aktive olan reseptör-2 (PAR2)'yi aktive eder (175). Ayrıca, PAR2'den türetilmiş peritübüler hücreler, enflamatuar araçlar TGFβ2 ve siklooksijenaz COX2'nin ekspresyonunda bir artışa neden olur. İnfertil hastalardan alınan insan testis biyopsilerinin analizlerinde, seminifer tübüllerin duvarları içindeki MH sayısında bir artış bulmuştur; bu hücrelerin çoğunun aktif

olduğu ve triptaz ifade ettiği belirlenmiştir. Bu MH'ler sıklıkla spermatogonyum ve Sertoli hücrelerine yakın lokalize olmuşlardır. MH, muhtemelen PAR2'yi ifade eden spermatogonyumu salgılanan ürünleri yoluyla etkileyebilmektedir (176).

Tablo 2. Mast hücrelerinden salınan büyük mediatörler (12)

Madde	Hücre içi kaynak	Etkisi
Primer mediatörler		
Histamin	Granüller	Damar genişletici; damar geçirgenliğini artırır, bronşiyal düz kasların kasılmasına neden olur, mukus yapımını artırır.
Heparin	Granüller	Antikoagülan; histamini inaktive eder.
Eozinofil kemotaktik faktörler	Granüller	Eozinofilleri inflamasyon bölgesine çeker.
Nötrofil kemotaktik faktörler	Granüller	Nötrofilleri inflamasyon bölgesine çeker.
Aril sülfat	Granüller	Lökotrien C4'ü inaktive eder, inflamatuvar yanıtı sınırlar.
Kondroidin sülfat	Granüller	Histamini bağlar ve inaktive eder.
Nötral proteazlar	Granüller	Kompleman aktivasyonu için protein ayrılması; inflamatuvar cevabı artırır.
Sekonder mediatörler		
Prostaglandin D2'nunu	Membran lipidi	Bronşiyal düz kasların kasılmasına neden olur; mukus sekresyo-arttırır; damar daraltır.
Lökotrien C4,D4,E4	Membran lipidi	Damar genişletici; damar geçirgenliğini artırır; bronşiyal düz kasların kasılmasına neden olur.
Bradikininler	Membran lipidi	Damar geçirgenliğine neden olur; ağrı duyusundan sorumludur.
Tromboksan A2	Membran lipidi	Platlet agregasyonuna neden olur; damar daraltır.
Platlet aktive edici faktör	Fosfolipaz A2 ile etkinleşir	Nötrofil ve eozinofilleri çeker; damar geçirgenliğine neden olur; bronşiyal düz kaslar kasılır.

1.3.2.6.1. Testiküler Mast Hücreleri

Mast hücreleri, kemirgenlerde kan damarlarının yakınında ve / veya insanlarda interstisyel kompartmanda subalbuginea alanı içinde lokalize olan heterojen fenotiplere sahip dokuda yerleşik immün hücrelerdir. MH, başlangıçta kemik iliğinde ve daha sonra östrojenlerin etkisi altında göç ettikleri spesifik organda lokal olarak farklılaşan CD34 + hematopoietik progenitör hücrelerden köken alır (170). MH, doğuştan gelen bağışıklık, doku homeostazı, remodeling ve adaptif bağışıklıkta çeşitli rollere sahiptir. Histamin, kimaz, triptaz, karboksipeptidaz A ve TNF α gibi önceden sentezlenmiş maddeler granüllerinde depo halindedir ve MH aktivasyonu ile beraber hızlı bir şekilde salınır. MH aktivasyonundan sonra TNF α , IL6 ve IL1 β , de novo olarak sentezlenir (172). Otoreaktif T hücreleri ile doğrudan etkileşimler MH'lerini aktive ederek degranülasyonu ve sitokin üretimini indükleyebilmektedir. İnflamasyon sırasında (defektif spermatogenez, varikosel, infertilite, EAO ve testis torsiyon modelleri olan hastalarda olduğu gibi) MH sayısı artar. Burada serin proteaz, triptaz seminifer tübüllerin fibrozunu indükleyerek fibroblast proliferasyonunu ve kollajen sentezini artırır. MH ayrıca matriks metaloproteinazları (MMP) ve doku MMP inhibitörlerini aktive ederek fibrozu düzenleyebilir (174). Epididimorşit patolojilerinde, MH esas olarak ST çevresinde ve özellikle granülomların çevresinde birikir. Bu MH tarafından salınan triptaz, hücre proliferasyonunu ve sitokin üretimini indüklemek için peritübüler hücreler ve TM tarafından eksprese edilen proteinaz ile aktive olan reseptör-2'yi (PAR2) aktive eder (175). Dahası, PAR2'den türetilmiş peritübüler hücreler, enflamatuar aracılar MCP1, TGF β 2 ve siklooksijenaz COX2'nin ekspresyonunda bir artışa neden olur. İnfertil hastalardan alınan insan testis biyopsilerinin analizlerinde, seminifer tübüllerin duvarları içindeki MH sayısında bir artış bulmuştur; bu hücrelerin çoğunun aktif olduğu ve triptaz ifade ettiği belirlenmiştir. Bu MC'ler sıklıkla spermatogonyum ve Sertoli hücrelerine yakın lokalize olmuşlardır, MH, PAR2'yi ifade eden spermatogonyumu muhtemelen salgılanan ürünleri yoluyla etkileyebilmektedir (176).

İmmün sistem hücreleri, enflamatuar yanıtı azaltarak ve normal fizyolojik fonksiyonları destekleyerek testis homeostazının sürdürülmesinde önemli rollere sahiptir. Testis immün hücrelerinin, özellikle TM'nin zayıflatılmış enflamatuar tepkisi, testisin immün ayrıcalıklı organ olmasını sağlamaktadır. Herhangi bir enflamatuar yanıt testis fonksiyonuna (yani steroidogenez ve spermatogenez) ciddi şekilde zarar verebilir (138).

1.3.3. Sitokinler

Sitokinler hem doğal hem de edinsel immünitede görev alan düşük molekül ağırlıklı peptid ve glikoprotein yapıda mediyatörlerdir (9, 82). Lenfoid organlarda, infeksiyon ve doku hasarı olan alanlarda inflamasyon sırasında, immün sistemin hücreleri birbirleri ile sitokinler aracılığı ile iletişim kurarlar (9). Sitokinler, makrofajlar ve T hücresi gibi immün sistemin hücrelerine sinyal verirken, aynı zamanda makrofajların infeksiyon bölgesine göçmelerini sağlayarak patojenlerle savaşmasını sağlarlar (177, 178) . Sitokinler üretildikten sonra hedef hücre yüzeyinde bulunan kendilerine özgü reseptörlere bağlanarak fonksiyon gösterirler. Sitokinler etkilerini; otokrin, parakrin ve daha nadir olarakta uzaktaki hücreler üzerinde gösterebilirler. Fonksiyonlarına göre sitokinler; Doğal immüniteyi düzenleyen (IL-1, IL-6, IL-12, IFN- α/β , IFN- γ , TNF- α), edinsel immüniteyi düzenleyen (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IFN- γ), hematopoezi düzenleyen (IL-3, IL-7, IL-15, GM-CSF) olarak gruplandırılabilirler (85) (Tablo 3).

Tablo 3. Ana işlevlerine göre gruplandırılan sitokinler (9)

Sitokin ^a	Ana işlevleri
GM-CSF, M-CSF	Kemik iliğindeki lökosit öncül hücrelerinin çoğalma ve farklılaşma faktörleridir.
TNF- α , TGF- β , IL-1	İnflamasyon ve ateşin uyarılması
IL-12	T lenfositlerin ve NK hücrelerinin çoğalmasının uyarılması
IL-2, IL-4	Yardımcı T lenfositlere ve B lenfositlere ait büyüme faktörleridir.
IL-5	Eozinofil proliferasyonu, farklılaşması ve etkinleştirilmesi
Interferon- γ , IL-4	Makrofajların etkinleştirilmesi
IL-10	Makrofajların ve özgül edinsel bağışıklık yanıtlarının engellenmesi
Interferon- α , Interferon- β	Antiviral etkinlik
IL-8	Nötrofiller ve T lenfositler için kemokin

1.3.4. İmmün Yanıt Tipleri

İmmün sistemin antijenlere karşı, doğal/özgül olmayan (innate) ve edinsel /kazanılmış (adaptive) immün yanıt mekanizmalarının koordineli çalışmasıyla cevap oluşturur. Enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattını ‘doğal immünite’ oluştururken sonrasında olaya daha yavaş katılan ancak daha özgül ve etkin savunmayı sağlayan edinsel immünite devreye girer (9, 82).

1.3.4.1. Doğal İmmünite

Sağlıklı bireylerde bulunan immünitedir ve yabancı antijene karşı vücudun ilk cevabını oluşturur (2, 90). Esas olarak mikroorganizmaları hedef alan bu sistem aynı zamanda mikroorganizmalar ile edinsel bağışıklığı yönlendirir. Doğal immünitinin iki önemli cevabı, enflamasyon ve antiviral savunmadır. Enflamasyon, doku hasarı olan bölgelere lökositler ve plazma proteinlerinin göç etmesidir. Doğal immünite etkenle her karşılaşmasında hızlı ancak aynı cevabı vermektedir (82). Doğal immünitinin yapı taşları, epitel tabakası, dokulardaki hücreler (makrofajlar, dendritik hücreler ve diğerleri), NK hücreleri ve bir dizi plazma proteinidir. Doğal immünitinin, mikroorganizmaları ve hasarlı hücreleri tanımasını sağlayan reseptörleri vardır bu reseptörler fagositleri dendritik hücreler ve lenfositler, epitel ve endotelial hücreleride içeren hücrelerin üzerinde yer alır. Bunlardan biri olan TLR farklı hücrelerde farklı TLR şeklinde bulunur. TLR'nin devreye girmesiyle fagositler ve diğer hücreler etkileşir. Bir dizi uyarım sonucunda transkripsiyon faktörleri olan, nükleer faktör kappa B (NF-kB) ve interferon düzenleyici faktörler (interferon regülatory factor, IRFs) uyarılır. Böylece sitokinlerin, endotelial yapışma moleküllerinin ve tip I interferonun üretimi uyarılır (9, 10, 82).

Doğal immüniteyi uyaran mikrobiyal moleküllere, enfeksiyon etkenleri üzerinde yer aldıklarından ve aynı tip mikroorganizmalar tarafından paylaşılması nedeniyle patojen ilişkili moleküler örgüler (PAMPs) adı verilir. TLR'ler; PAMPs'ı tanımaktadırlar (12, 82). Deri, gastrointestinal, solunum ve ürogenital sistemlerin muköz zarları gibi fiziksel bariyerlerde doğal immünitinin temel bileşenlerindendir. Bu fiziksel bariyerler konağı enfeksiyonlardan ve mikroorganizmaların penetrasyonundan korur (13, 23). Mikroorganizmaların vücuda ortak giriş yeri olan deri, solunum, sindirim sistemleri fiziksel ve kimyasal engel oluşturan epitel tabakası tarafından korunmaktadır (82).

1.3.4.2. Edinsel İmmünite

Edinsel immünite adaptif, özgül veya kazanılmış immünite olarak da bilinir, aktive olmadan önce lenfositlerin çoğalması ve farklılaşması gerekir. Edinsel immünite doğal immüniteden sonra ortaya çıkar, yavaş ve özgündür (82).

Edinsel immün sistem, lenfositler ve onların antikorlarından oluşur. Humoral ve hücrel immüniteden oluşur. Sırasıyla hücre dışı ve hücre içi enfektif ajanlara etki etmektedirler. Antijenle ilk karşılaşma sonrası primer immünite oluşurken, aynı antijenle tekrar karşılaşma sonucunda sekonder immünite gelişir. Sekonder immünite, primer immün yanıt sırasında tetiklenen bellek hücrelerinin aktive olmasıyla oluşur. Edinsel immünitenin hücreleri olan T lenfositler, B lenfositler ve ASH'ler birbirleriyle sitokinler ve hücre yüzey markerları aracılığıyla haberleşirler (9, 12, 82). Kazanılmış immün cevap süresince spesifik T ve B lenfositler, istilacı mikroorganizmaları tahrip etmek üzere aktive olurlar. Edinsel immün cevaplar, her biri lenfositlerin belirli yanıtlarına eş basamaklar halinde gelişir (18, 82) (Tablo 4).

Tablo 4. Doğal ve edinsel immün yanıtların özellikleri (85).

Özellik	Doğal	Edinsel
Yabancı/kendi ayrımı, yabancıya karşı reaksiyon	Var	Var
Koruma	Doğumdan itibaren genel koruma	Belirli bir patojen ile karşılaştıktan sonra özgül koruma
Yanıtın gelişme süresi	Hızlı (0-12 saat)	Yavaş (3-4 gün)
Özgüllük	Yok (Farklı antijenlere karşı aynı yanıt)	Var (Belirli bir antijene karşı özgül yanıt)
Yabancıyı tanıyan moleküller	Kalıp tanıyan reseptörler (TLR, NLR, RLR, CLR)	T hücre reseptörü, B hücre reseptörü, antikorlar
Reseptör repertuarı	Sınırlı (Genel mikrobiyal yapıları tanıyan reseptörler)	Geniş (Mikrobiyal olan ve olmayan her bir antijeni özgül olarak tanıyan reseptörler)
Hücreler	Dendritik hücreler* makrofajlar *, nötrofiller, mast hücreleri, bazofiller, NK hücreleri	T ve B lenfositleri
Çözünür moleküller	Makrofaj kaynaklı sitokinler (IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α , IFN-a/b, vb)	Lenfosit kaynaklı sitokinler (IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17, IFN-g, vb)
Dolaşımdaki etkin moleküller	Kompleman, akut faz reaktanları	Antikorlar
İmmünolojik bellek	Yok (Aynı etkenle tekrar karşılaşmada aynı yanıt)	Var (Aynı etkenle tekrar karşılaşmada daha hızlı ve etkin yanıt)

*Bu hücreler antijen sunma özelliğinde olup, T hücrelerini uyarak doğal yanıtta özgül yanıtta geçişte köprü rolü oynar.

1.3.4.2.1. Hücresel İmmünite

Hücresel immünite; viral, fungal, mikrobakteriyal enfeksiyonlara ve tümör hücrelerine karşı savunmada önemli rol oynayan immünitedir. Lenfoid organlarda antijen ve kostimulatör devreye girdiğinde, naif T hücreleri sitokinler salgırlar ve ASH'ların salgıladığı sitokinlere de cevap verirler. Tüm bu olaylar sonucunda T hücreleri çoğalır ve efektör hücrelere dönüşürler. Lenfoid organlarda oluşan bu efektör T hücreleri kana geri döner daha sonra antijenin bulunduğu alana yönelir. Farklı sınıfın T hücreleri, farklı özellikli T hücrelerine dönüşürler. Yardımcı T hücreleri hem kendilerini etkileyen sitokinleri sentezler, hem de nötrofillerin ve diğer lökositlerin enfeksiyon bölgesine toplanmasını sağlar. Diğer yardımcı T hücreleri makrofajların etkinliğini uyarır ve lenfoid organlarda kalarak B hücrelerinin işlevlerine katkıda bulunur. Ayrıca sitotoksik T lenfositler de hücresel immünitede oldukça etkin lenfosit grubudur (18, 82).

1.3.4.2.2. Humoral İmmünite

Bakteri, virüs ve tümör hücrelerinin yabancı proteinlerine karşı B hücreleri çoğalır ve antikor salgılayan plazma hücrelerine dönüşürler. B hücreleri protein antijenlerine tam yanıt verebilmek için $CD4^+$ T hücrelerinden yardım alırlar. B hücreleri antijenleri fagosite eder, parçalar ve yardımcı T hücreleri tarafından tanınabilmesi için MHC molekülüne bağlayarak hücre yüzeyine sunarlar (18, 82, 179).

Polisakkaritler ve lipidler temel olarak immünoglobülin M antikorı salgırlar. Protein antijenler yardımcı T hücrelerini tetikleyerek farklı sınıflardan antikor yapımını sağlarlar. Antikorlar antijenlere bağlanır, hücreleri enfekte etmelerini önler, antijenleri opsonize ederek fagositozu sağlar ve kompleman sistemini aktiflerler (82).

1.3.5. İmmünolojik Tolerans ve Otoimmünite

İmmünolojik tolerans, lenfositlerin bir antijenle karşılaşmasının ardından o antijene yanıtsız kalmasıdır. Lenfositler işlevsel olarak etkisiz kılınır veya öldürülürse antijene tolerans gelişir bu tip yanıtı oluşturan antijene tolerojen denir

(82). Bazı durumlarda antijene özgü lenfositler yanıt veremezler, antijeni yok sayarlar. Bu duruma immünojenik yok sayma denir. Lenfositlerin etkinleşmesi ve toleransı arasındaki seçimi antijenin kendisi ve immün sistemin ek sinyalleri belirler. Merkezi tolerans, olgunlaşmamış lenfositlerin lenfoid organlarda antijenle karşılaşması sonucunda tetiklenirken; periferik tolerans, olgun lenfositlerin periferik dokularda antijenle karşılaşması sonucunda oluşur. Merkezi tolerans, sadece kemik iliği ve timusta oluşur. Öz (otolog) antijenler toleransı tetikler ve öz tolerans bozulursa otoimmünite meydana gelir. Otoimmünite gelişimindeki başlıca etmenler genetik yatkınlık ve enfeksiyonlar gibi çevresel uyaranlardır. Birçok gen otoimmün hastalığa yatkınlığa neden olmakla birlikte bunlardan en önemlileri HLA genleridir ve çeşitli T-hücre aracılı otoimmün hastalıklara neden olmaktadır. Enfeksiyonlar ise eş uyaranların hücre yüzeyinde sergilenmesiyle veya mikroorganizmalar ve öz antijenler arasındaki çapraz-reaksiyon ile otoimmün yatkınlık oluştururlar (18, , 57, 59, 82, 85).

Bu çalışmada, sıçanlarda deneysel olarak tek taraflı testis torsiyonu uygulanarak detorsiyondan 4 saat, 24 saat, 7 gün ve 14 gün sonra aynı taraf ve karşı taraf testis dokusunda, doku hasarına yol açabilecek olan M1 ve doku onarımında etkili olan M2 makrofaj polarizasyonunun immunohistokimyasal yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylelikle, üzerinde hala tartışmalar devam eden ve halen tam bir görüş birliğine varılamayan tek taraflı testis torsiyonunda, kontralateral testis dokusunda meydana gelen hasarın mekanizmasının aydınlatılmasına katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 11.03.2020 tarih ve 2020/04 sayılı kararı gereğince etik yönden uygun bulunmuştur.

Çalışmanın deneysel kısmı Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM), Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Fırat Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ve Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Döllenme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapıldı.

Çalışmanın bütçesi TF.20.35 nolu proje kapsamında Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP) tarafından karşılandı.

2.1. Deney Hayvanlarının Beslenmeleri ve Barındırılmaları

Çalışmada FÜDAM'dan temin edilen 63 adet 8-10 haftalık Spraque-Dawley cinsi erişkin erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları FÜDAM'da 12 saat (07:00-19:00) aydınlık - 12 saat (19:00- 07:00) karanlık fotoperiyodunda, 21 ± 1 °C ortam sıcaklığında takip edildi. Sıçanlar özel olarak yaptırılan kafeslerde beslendi ve her gün altları temizlendi. Özel olarak tasarlanmış kafeslerde barındırılan sıçanların ad libitum su ve yem alımları sağlandı. Hayvanlara verilen yemler Elazığ Yem Fabrikası'nda hazırlandı. Hayvanların beslendiği yemler; %15 buğday, %10 mısır, %27 arpa, %8 kepek, %29,4 soya, %8 balık unu, %0,6 tuz, %0,2 kavimix VM23-Z, %0,2 metionin (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 mgI, 0,2 mg Co, 0,06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca bulunur), %1.6 DCP (% 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0,2 flor'dan oluşur) içermektedir.

2.2. Deney Grupları ve Uygulamalar

Deneyde her grupta, $n=7$ hayvan olacak şekilde 63 adet Sprague-Dawley cinsi erişkin erkek sıçan rastgele seçilip 9 gruba ayrıldı:

Kontrol grubu: Bu gruptaki sıçanlara deney süresince herhangi bir işlem uygulanmadı.

Sham 4 saat grubu: Cerrahi olarak batin açılarak sol testis dışarı alınıp herhangi bir işlem yapılmadan 4 saat bekletildikten sonra tekrar batin içerisine alınıp normal konumuna yerleştirilip kapatıldı 4 saat sonra sağ ve sol testis alındı.

Sham 24 saat grubu: Cerrahi olarak batin açılarak sol testis dışarı alınıp herhangi bir işlem yapılmadan 4 saat bekletildikten sonra tekrar batin içerisine alınıp normal konumuna yerleştirilip kapatıldı, 24 saat sonra sağ ve sol testis alındı.

Sham 7 gün grubu: Cerrahi olarak batin açılarak sol testis dışarı alınıp herhangi bir işlem yapılmadan 4 saat bekletildikten sonra tekrar batin içerisine alınıp normal konumuna yerleştirilip kapatıldı, 7 gün sonra sağ ve sol testis alındı.

Sham 14 gün grubu: Cerrahi olarak batin açılarak sol testis dışarı alınıp herhangi bir işlem yapılmadan 4 saat bekletildikten sonra tekrar batin içerisine alınıp normal konumuna yerleştirilip kapatıldı, 14 gün sonra sağ ve sol testis alındı.

Torsiyon 4 saat grubu: Cerrahi olarak batin açılarak sol testis dışarı alınıp saat yönü tersine 720 derece döndürülüp torsiyon oluşturuldu. 4 saat torsiyon süresi sonunda detorsiyon yapılan testis tekrar batin içerisine alınıp normal konumuna yerleştirilip kapatıldı ve 4 saat sonra sağ ve sol testis alındı.

Torsiyon 24 saat grubu: Cerrahi olarak batin açılarak sol testis dışarı alınıp saat yönü tersine 720 derece döndürülüp torsiyon oluşturuldu. 4 saat torsiyon süresi sonunda detorsiyon yapılan testis tekrar batin içerisine alınıp

normal konumuna yerleştirilip kapatılarak ve 24 saat sonra sağ ve sol testis alındı.

Torsiyon 7 gün grubu: Cerrahi olarak batın açılarak sol testis dışarı alınıp saat yönü tersine 720 derece döndürölüp torsiyon oluşturuldu. 4 saat torsiyon süresi sonunda detorsiyon yapılan testis tekrar batın içersine alınıp normal konumuna yerleştirilip kapatıldı ve 7 gün sonra sağ ve sol testis alındı.

Torsiyon 14 gün grubu: Cerrahi olarak batın açılarak sol testis dışarı alınıp saat yönü tersine 720 derece döndürölüp torsiyon oluşturuldu. 4 saat torsiyon süresi sonunda detorsiyon yapılan testis tekrar batın içersine alınıp normal konumuna yerleştirilip kapatıldı ve 14 gün sonra sağ ve sol testis alındı.

2.3. Deneyin Sonlandırılması ve Doku Örneklerinin Alınması

Dekapitasyonun ardından histolojik değerslendirmeler için sıçanların testis dokuları fiksasyon amacıyla doku içine bouin enjeksiyonu yapılp ardından tekrar bouin solüsyonuna alındı. Biyokimyasal analizler için ise kan örnekleri 3500 rpm’de 5 dakika santrifüj edilip serumlara ayrıldı. Serum örnekleri çalışma gününe kadar ependorflarda -20°C de muhafaza edildi.

2.4. Histolojik Çalışma

Her gruptan alınan sağ ve sol testis dokuları, fiksasyon kontrolü yapılarak ortalama 6-8 saat sonra Bouin’s solüsyonunda bekletildi. Daha sonra yarım saatte bir olmak üzere 3 saat % 50’lik, 2 saat % 60’lık ve 2 saat% 70’lik etanol solüsyonlarından geçirilerek yıkandı. Yıkamış olan dokular, rutin histolojik takip serilerinden geçirilerek dehidrate edildi (Tablo 5). Dokular dehidratasyonun ardından ksilolde parafinden tamamen arındırılıp parlatıldı ve parafine (P3558-1kg Sigma-Aldrich Paraplast Embedding Media, U.S.A) gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan rodajlı ve polilizinli lamlara 5 µm kalınlığında çok sayıda kesit alındı. Histokimyasal ve immünohistokimyasal boyamalar için preparatlar hazır hale getirildi.

Rodajlı lamlardaki kesitler Hematoksilen- Eozin (H&E), Toluidin Mavisi, Periyodik asit schiff (PAS)-Hematoksilen, Malloy-Azan boyası ile

boyanıp ışık mikroskopunda (Leica DM 2500; Wetzlar, Almanya) incelenerek fotoğraflandı. Polilizinli lamda olan kesitlere ise CD68 ve CD163 immünreaktivitelerini göstermek amacıyla immünohistokimyasal boyamalar ve apoptozise giden hücrelerin tespiti için ise TUNEL boyaması yapıldı. Boyanan preparatlar ışık mikroskopunda incelenip, gerekli değerlendirmeler yapıldı ve fotoğraflandı.

Tablo 5. Histolojik takip işlem basamakları

SIRA	İŞLEM	SÜRE
1	% 70 Alkol	2 saat
2	% 80 Alkol	1 saat
3	% 96 Alkol	1 saat
4	% 96 Alkol	1 saat
5	% 100 Alkol	1 saat
6	% 100 Alkol	1 saat
7	Ksilol I	1 saat
8	Ksilol II	1 saat
9	Sert Parafin	Gece boyu
10	Gömme	

2.5. Işık Mikroskobu

Histolojik incelemeler için rodajlı lamlara alınan testis kesitlerine H&E, PAS-Hematoksilen, Mallory-Azan ve Toluidine Mavisi boyamaları yapıldı.

2.5.1. H&E Boyaması

Torsiyon-detorsiyon sonrası testis dokusunda meydana gelen histopatolojik değişikliklerin değerlendirilmesi için rutin histolojik takip

serilerinden geçirilen kesitlere Tablo 6’da gösterilen protokole uygun şekilde H&E boyaması yapıldı.

Tablo 6. Histolojik takip işlem basamakları

Sıra	İşlem	Süre
1	Etüvde	5-6 saat
2	Etüv Sonrası Oda Isısında Soğutma	10-15 dakika
3	Xylol	Gece boyu
4	% 100 Alkol I	3 dakika
5	% 100 Alkol II	3 dakika
6	% 95	2 dakika
7	% 80	1 dakika
8	% 70	1 dakika
9	% 50	1 dakika
10	Distile Su	1 dakika
11	Preparatları Peçete Yardımıyla Kurut	
12	Harris Hematoksilen	3 dakika
13	Çeşme Suyu	5 dakika
14	Asit – Alkol Solüsyonu	8-10 saniye
15	Çeşme Suyu	2 dakika
16	Distile Su	30 saniye
17	Blueing Solüsyonu	1 dakika
18	Çeşme Suyu	2 dakika
19	%80 Alkol	30 saniye
20	Eozin	30 saniye
21	% 70 Alkol	1 dakika
22	% 95 Alkol I	1 dakika
23	% 95 Alkol II	1 dakika
24	% 100 Alkol I	30 saniye
25	% 100 Alkol II	30 saniye
26	Xylol I	5 dakika
27	Xylol II	5 dakika
28	Kapatma	

2.5.2. Mallory-Azan Boyaması

Deparafinize edilip ksilol ile şeffaflaştırılan kesitler, azalan etanol serilerinden (%100, %100, %96, %90, %80, %70) geçirildi ve rehidrate edildi. Weigert Hematoksileni ile 20 dakika çekirdek boyaması yapıldı. Kesitlerin yıkaması gerçekleştirildi. Bierbrich Scarlet Asit Fuksin ile kollajen fibrilleri gibi tüm asidofilik elemanların boyaması yapıldı. Distile sudan geçirilen kesitler, fosfotungustik-fosfomolibdik asit solüsyonunda 15 dakika bekletildi. Daha sonra 5 dakika Anilin Blue'de bekletilerek tekrar distile sudan geçirilip doku bölümlerini ayırt etmek için %1'lik asetik asitten geçirildi. Artan dereceli etanol serilerinden geçirilerek dehidrate edilen preparatlar ksilole alındı ve entellan ile kapatıldı. Mallory-Azan boyaması ile testis dokusunda bağ dokusu incelemesi yapıldı.

2.5.3. PAS-Hematoksilen Boyaması

Rodajlı lamlara alınan testis kesitleri ksilolde deparafinize edildi. Azalan etanol serilerinde rehidrate edildi. Distile suya alınan kesitlerin yıkaması yapıldı. %0,5'lik Periyodik Asit solüsyonu içerisinde 5 dakika bekletilen kesitler distile suda 2 dakika süreyle periyodik asitten arındırıldı. Distile sudan alınan kesitler daha sonra 15 dakika süreyle Schiff reaktifinde boyandı. Çeşme suyunda 5 dakika yıkanan kesitlerde gözle pembelik değerlendirildi. Harris Hematoksilen ile 10 saniye zıt boyaması yapılan kesitler distile suda 1 dakika yıkandı ve artan etanol serilerinden geçirilerek (%70, %80, %90, %96, %100) dehidrate edildi. Ksilolden hızlıca geçirilen kesitler şeffaflaştırıldı ve kurutma yapılmadan entellan ile kapatıldı.

2.5.4. Seminifer Tübül Çapları ve Germinal Epitel Kalınlıkları

Seminifer tübül çaplarındaki ve germinal epitel kalınlıklarındaki değişiklikler testis hasarının önemli göstergeleridir. Bu nedenle H&E boyaması yapılan preparatlar ışık mikroskobu altında x200'lük büyütmede incelenerek her grupta farklı alanlardan rastgele 50 adet seminifer tübül seçildi (180). Ölçümlerde

standardizasyonu sağlamak ve hata payını minimuma indirmek için yuvarlak ya da hafif oval tübüller seçildi ve ölçümler yapıldı. Germinal epitel kalınlıkları dört farklı yerden, seminifer tübül çapları iki farklı yerden ölçülerek ortalamaları alındı. Grupların ortalama seminifer tübül çapları ve germinal epitel kalınlıkları istatistiksel analizler ile karşılaştırıldı.

2.5.5. Cosentino Skorlaması

Testis hasarının derecesinde seminifer tübüllerin ve intersitisyel alanın histopatolojik değişimi oldukça önemlidir. Bu nedenle gruplar arası total histopatolojik değişimi göstermek amacıyla Cosentino klasifikasyon kullanıldı. Skorlama için H&E boyaması yapılan kesitler, ışık mikroskobu altında x200'lük büyütmede değerlendirildi.

Değerlendirmede literatürden yola çıkılarak 4 seviyeli gradeleme ölçeği kullanıldı (181).

Grade 1: Germ hücrelerinin düzenli sıralanması ile normal testiküler yapı;

Grade 2: Daha az düzenli, kohezif olmayan germ hücreleri ve sıkı paketlenmiş seminifer tübüller;

Grade 3: Büzüşmüş piknotik çekirdekli düzensiz-dökülmüş germ hücreleri ve daha az düzenli seminifer tübüller;

Grade 4: Koagülatif germ hücre nekrozu ile sıkıca paketlenmiş seminifer tübüller.

2.5.6. Johnsen Skorlaması

Spermatogenezis Johnsen'in ortalama testis biyopsi skoru kriterleri kullanılarak histopatolojik olarak değerlendirildi (182). Skorlama için H&E boyaması yapılan kesitlerde, ışık mikroskobu altında x200'lük büyütmede her grupta toplam 50 seminifer tübül değerlendirildi. Epitel matürasyonuna göre aşağıdaki kriterler göz önünde bulundurularak her tübüle 0-10 arası bir skor verildi.

Skor 1: Hiç hücre içermeyen tübüller

Skor 2: Sertoli hücreleri içeren ancak germinal hücre içermeyen tübüller

Skor 3: Germinal hücre olarak yalnızca spermatogonyum içeren tübüller

Skor 4: Spematozoa ve spermatid içermeyen, 5'den az spermatosit içeren tübüller

Skor 5: Spermatosit içeren ancak spermatozoa ve spermatid içeren tübüller

Skor 6: Spermatozoa içermeyen, 10'dan az spermatid içeren tübüller

Skor 7: Çok sayıda spermatid içeren ancak spermatozoa içermeyen tübüller

Skor 8: Çok tabakalı germinal epitel içeren ancak lümenlerinde 10'dan az spermatozoa içeren tübüller

Skor 9: Spermatozoa içeren ancak düzensiz germinal epitele sahip tübüller

Skor 10: Düzenli ve çok tabakalı germinal epitele sahip ve lümeninde çok sayıda spermatozoa içeren tübüller.

2.5.7. Toluidin Mavisi Boyaması

Kesitlerin etüvde deparafinizasyonu sağlandı. Etüvden çıkarılan preparatlar iki farklı ksilol içerisinde 15'er dakika şeffaflaştırıldı. Azalan etanol serilerinden geçirilerek rehidrate edilen kesitler distile su ile yıkandı. Yıkanan preparatlar %1'lik Toluidin Mavisi solüsyonu içerisinde 2 dakika bekletildi. Hızlı bir şekilde yıkamaya alınan preparatlar, boyanmanın solmasını minimize etmek amacıyla %96'lık ve %100'lık etanolde kısa ve hızlı dehidrate edildi. Ksilol içerisinde 15-20 saniye bekletilen kesitler entellan ile kapatıldı.

Protokole uygun şekilde çekirdek ve sitoplazmalarda mavi boyanma meydana gelirken, mast hücre granüllerinde menekşe rengi boyanma gerçekleşti. Preparatlar ışık mikroskobu altında (x200'lük büyütmede [HPF] =0,44 mm²) değerlendirilip, fotoğraflandı (183). Tunika albuginea'ya yakın alanlarda mast hücrelerinin sayımı yapıldı.

2.6. Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated deoxyuridine triphosphate (dUTP)-biotin nick end-labeling (TUNEL)

Metodu

Her gruba ait doku örneklerinde DNA fragmentasyonu ile gelişen apoptozisi saptamak amacıyla TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) yöntemi uygulandı. Bir gün öncesinde buzlukta bekletilen parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2125RT) yardımıyla polilizinli lamlara 5µm kalınlığında kesitler alındı. Üretici firmanın (S7101, ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit, Millipore, ABD) talimatına uyularak yapılan boyama prosedürü sonucunda apoptozise giden hücreler belirlendi.

Harris hematoksilen ile zıt boyaması yapıldıktan sonra kesitler uygun kapatma mediumu ile kapatıldı. Hazır olan preparatlar ışık mikroskopunda değerlendirilerek fotoğraflandı. TUNEL boyamasının değerlendirilmesinde Harris Hematoksilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal olarak kabul edildi. Apoptotik hücreler ise kahverengi çekirdek boyanması gösterdi.

Her bir gruba ait kesitlerde x200'lük büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik 1000 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücelere oranlanması ile Apoptotik indeks hesaplandı. Apoptotik indeks (%) = (Apoptotik hücre sayısı/toplam hücre sayısı) x 100.

2.7. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Testis dokusunda, M1/M2 makrofaj polarizasyonunu belirlemek için makrofaj yüzey belirteçlerinden olan CD68 ve CD163 immünreaktiviteyi değerlendirildi. Bu amaçla Avidin-Biotin-Peroksidaz yöntemi uygulanarak immünohistokimyasal boyamalar yapıldı.

Polilizinli lamlara alınmış olan testis kesitleri bir gece 60°C'lik etüvde bekletildikten sonra, ksilol ile deparafinizasyon ve şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Kesitler dereceli azalan etanol serilerinden geçirilip distile suya alınarak rehidrate edildi. Dokuları fiks etmek için kullanılan formaldehitte oluşan çapraz bağları yıkıp, maskelenen antijenleri açığa çıkarmak için kesitler sitrat

tampon solüsyonuna (pH: 6) alınıp mikrodalga fırında (750 W) 12 dakika kaynatılarak antijen retrieval yapıldı. Soğutma yapılan kesitler PBS içine alınıp etrafları hidrofobik kalemle (PatoLab Hydrophobic PAP PEN) sınırlandırıldı. Kesitlere H₂O₂ bloker (Hydrogen Peroxide Block, TA-125-HP, Lab Vision Corporation, USA) ile muamele edilerek endojen peroksidaz aktivitesi önleildi. PBS ile yıkandıktan sonra (2x5 dk) spesifik olmayan zemin boyamasını engellemek için Ultra V Block (Ultra V Block, TA-125-UB, Thermo Scientific, USA) solüsyonu uygulanan kesitler, daha sonra primer antikor [CD68 (KP1) (Mouse Monoclonal Antibody, sc-20060, Santa Cruz Biotechnology, Inc. California, ABD) ve CD163 (ED2) (Mouse Monoclonal Antibody, sc-58965, Santa Cruz Biotechnology, Inc. California, ABD)] ile oda ısısında karanlıkta ve nemli ortam kabında 60 dk inkübe edildi. PBS'e alınan dokular (2x5 dk), ardından sekonder antikor (TP-060-BN, Biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse/rabbit IgG), Thermo Scientific) ile oda ısısında 40 dakika inkübe edildi. PBS ile yıkanan (2x5 dk) kesitler takiben kromojenik substratların dönüşümünü katalize ederek fotometrik sinyali yükseltmek için Streptavidin HRP (Horse radish peroksidaz) (TS-060-HR, Streptavidin Peroxidase, Thermo Scientific) ile 30 dk nemli ortamda oda sıcaklığında inkübe edildi. PBS ile yıkandıktan sonra immunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla dokulara AEC (3-Amino-9-ethyl carbazole), (TA-060-HA, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu damlatılıp ışık mikroskopunda kahverengi-kırmızı görüntü sinyali alınmasının ardından reaksiyon eş zamanlı olarak distile su ile durduruldu. İşlem preparatlara Mayers Hematoksilen ile zıt boyama yapıp akan suda yıkanarak sonlandırıldı ve su bazlı kapatma solüsyonu ile (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatma yapıldı.

İmmünohistokimyasal boyama yapılan kesitler ışık mikroskobu altında değerlendirildi ve fotoğraflandı. Değerlendirmede boyamanın şiddeti ve yaygınlığı esas alındı. İmmünreaktivitenin yaygınlığı 0,1: <%25; 0,4: %26-50; 0,6: %51-75; 0,9: %76-100 ve şiddeti 0: yok; +1: az; +2: orta; +3: şiddetli olarak kabul edilerek semi-kantitatif olarak skorlandı. Histoskor: yaygınlık x şiddet.

2.8. Sperm Analizleri

Çalışmamızın sperm analizleri, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Laboratuvarında gerçekleştirildi.

2.8.1. Epididimal Sperm Yoğunluğu

Sağ epididimis 1 ml fizyolojik tuzlu suda (%0,9'luk NaCl) bistüri ve makas yardımıyla iyice parçalandı ve parçacıklar 2 dakika boyunca iyice ezildi. Epididimal dokudaki bütün spermatozoonların sıvıya geçmesi için oda sıcaklığında 4 saat inkübe edildi. Bekleme süresini takiben spermatozoon ihtiva eden süpernatant alyuvar pipetinin 0.5 çizgisine kadar, eozin solüsyonu (5 g sodyum bikarbonat, 1 ml formalin, 25 mg eozin ve 100 ml distile su) ise 101 çizgisine kadar çekildi. Böylece 1:200 oranında sulandırma yapılmış oldu. 10 mikrolitre (μ l) sulandırılmış süpernatant önceden lamel yapıştırılmış Neubauer lamının (0.1 mm derinlik, 0.0025 mm^2 'lik alan, LABART, Munich, Germany) her iki sayım alanına damlatıldı. Neubauer lamı ışık mikroskobuna yerleştirilip spermatozoonların alanın tamamına homojen şekilde dağılması sağlandı. Her iki sayım alanındaki spermatozoonlar x200'lük büyütmede sayıldı (184).

2.8.2. Spermatozoon Motilitesi

Motilite değerlendirmesi için bir lam mikroskobun ısıtma tablasına yerleştirilerek 37°C 'ye ısıtıldı. Üzerine 200 μ l Tris buffer solüsyonu [Tris (hidroksimetil) aminometan 3.63 g, glukoz 0.50 g, sitrik asit 1.99 g ve distile su 100 ml] damlatıldı. Daha sonra sol kauda epididimisten kesit yapılarak alınan ve spermatozoon ihtiva eden 5 - 10 μ l'lik süspansiyon Tris buffer solüsyonu üzerine bırakıldı ve homojen şekilde karışması sağlandı. Işık mikroskobunda x400'lük büyütmede motilite yüzdesi belirlendi. Motilite tahminleri sol kauda epididimisten alınan bir damla süspansiyon için rastgele 3 farklı alan incelenerek yapıldı. Bu 3 farklı alanın ortalama değerleri yüzde motilite oranı olarak kabul edildi (185).

2.8.3. Anormal Spermatozoon Oranı

Anormal spermatozoon oranını belirlemek için motilite tayininde kullanılan Tris buffer-spermatozoon karışımından 20 µl alınarak temiz ve önceden ısıtılmış (37 °C) bir lam üzerine konuldu. Bu karışım üzerine Eozin-Nigrozin boyasından (1.67 g eozin, 10 g nigrozin, 2.9 g sodyum sitrat, 100 ml distile su) 2 damla damlatıldı ve karıştırılıp homojen hale getirildi. Daha sonra bu karışımdan incecik frotiler çekilerek kurutuldu. Frotiler x400'lük büyütmede incelendi. Her bir frotide toplam 200 spermatozoon incelenip anormal spermatozoon oranı yüzde olarak ifade edildi (185).

2.9. Biyokimyasal Analizler

Tüm biyokimyasal analizler sıçanların serum örnekleri kullanılarak yapıldı. Dekapitasyon sonrası sıçanların kanları hızlıca jelli biyokimya tüplerine alındı. Daha sonra 3500 RPM'de 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serumlar, analiz gününe kadar -80 °C'de saklandı. Sıçan serum örneklerinde Enzim-bağlı immünosorbent deneyi (Enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA) metodu ile Testosteron (T), Follikül Stimulan Hormon (FSH) ve Luteinizan Hormon (LH) düzeyleri sıçan spesifik ELISA kitleri kullanılarak değerlendirildi.

2.9.1. ELISA Analizi

Serum T, FSH ve LH düzeyleri ELISA analizi ile sıçan spesifik ELISA kitleri (SunRed; T için REF: SRB-T-86337 LOT:202102, SunRed; LH için REF: 201110180 LOT:202102, SunRed; FSH için REF: 201110183 LOT:202102) kullanılarak üretici firmanın protokolü doğrultusunda yapıldı. Kullanılan kitler Tablo 7'de sunuldu. Analiz sonunda spektrofotometrede (Thermo Fischer, MultiScan, Almanya) 450 nanometre (nm) dalga boyunda optik dansite (OD) ölçüldü.

Tablo 7. Çalışmada Kullanılan ELISA Kitlerine ait Bilgiler

Elisa Kit Adı	Hassasiyet	Ölçüm Aralığı	Marka/Menşei	Katalog Numarası
LH Kiti	0,206 mIU/ml	0,3-60 mIU-ml	SunRed/Çin	201110180
FSH Kiti	0,202 IU/L	0,25-60 IU/L	SunRed/Çin	201110183
Testosteron Kiti	8,775 pg/ml	10-3000 pg/ml	SunRed/Çin	SRB-T-86337

2.10. İstatistiksel Analizler

Çalışmada yer alan bulguları değerlendirmek için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 22.0 istatistik programı kullanıldı. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma olarak tablolarda sunuldu. Gruplar arasındaki farklar, p değerinin 0,05'den az hesaplandığında istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi. Normal dağılımlı çoklu grupların aralarındaki fark test edilirken Tek Yönlü Varyans Analizi (One-way ANOVA) uygulandı. Grup farklılıklarına ait yapılan ANOVA analizi sonucunda farkın kaynağını belirlemek amacıyla post hoc Tukey testi uygulandı.

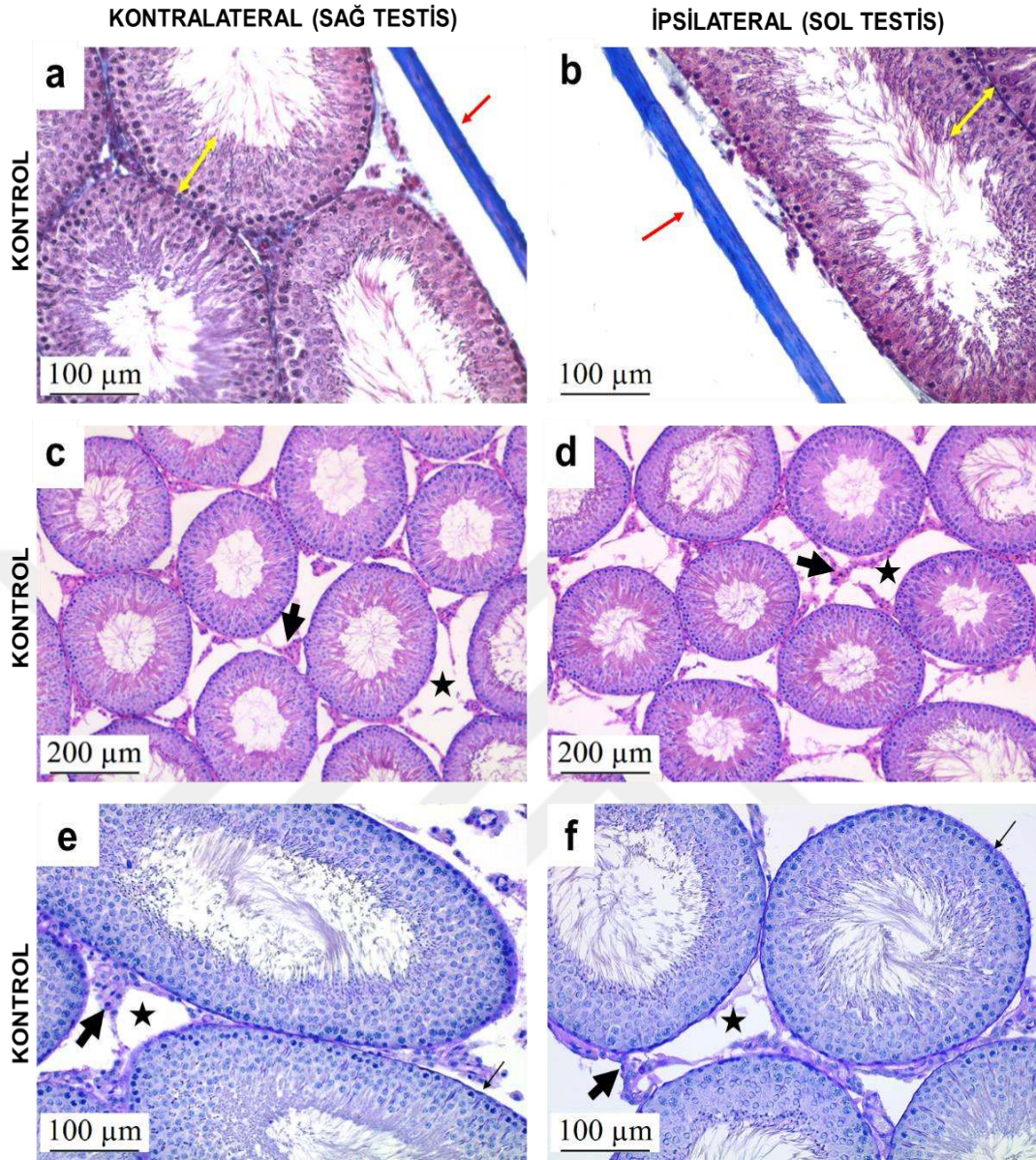
3. BULGULAR

3.1. Işık Mikroskobu

Işık mikroskobu düzeyinde gerçekleştirdiğimiz inceleme ile tüm gruptaki testis dokuları; ödem, vasküler konjesyon, lümene dökülen immatür germ hücreleri, vakuolizasyonlar, germ hücreleri arasında ayrılmalar, hemoraji, seminifer tübül epitel organizasyonunda bozulma ve dejenerasyonlar, bazı spermatositlerde metafaz arresti, bazal membranda ayrılmalar, çok çekirdekli dev hücreler, dejenere ve nekrotik tübüller açısından değerlendirildi. Ayrıca her grup için Cosentino ve Jhonsen değerlendirme skorlamaları yapıldı.

3.1.1. Histopatolojik Değerlendirmeler

Kontrol grubuna ait sağ ve sol testis dokularında seminifer tübüller ve interstisyel alan normal yapıda izlendi. Seminifer tübül epiteli ve tübül bazal membranlarında herhangi bir histopatolojik değişiklik gözlenmedi. Seminifer tübül epitelinde, spermatogonyumdan sperme kadar olan spermatogenik seri hücrelerinde düzensizlik izlenmedi. İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri de normal yapıda gözlemlendi (Şekil 13).

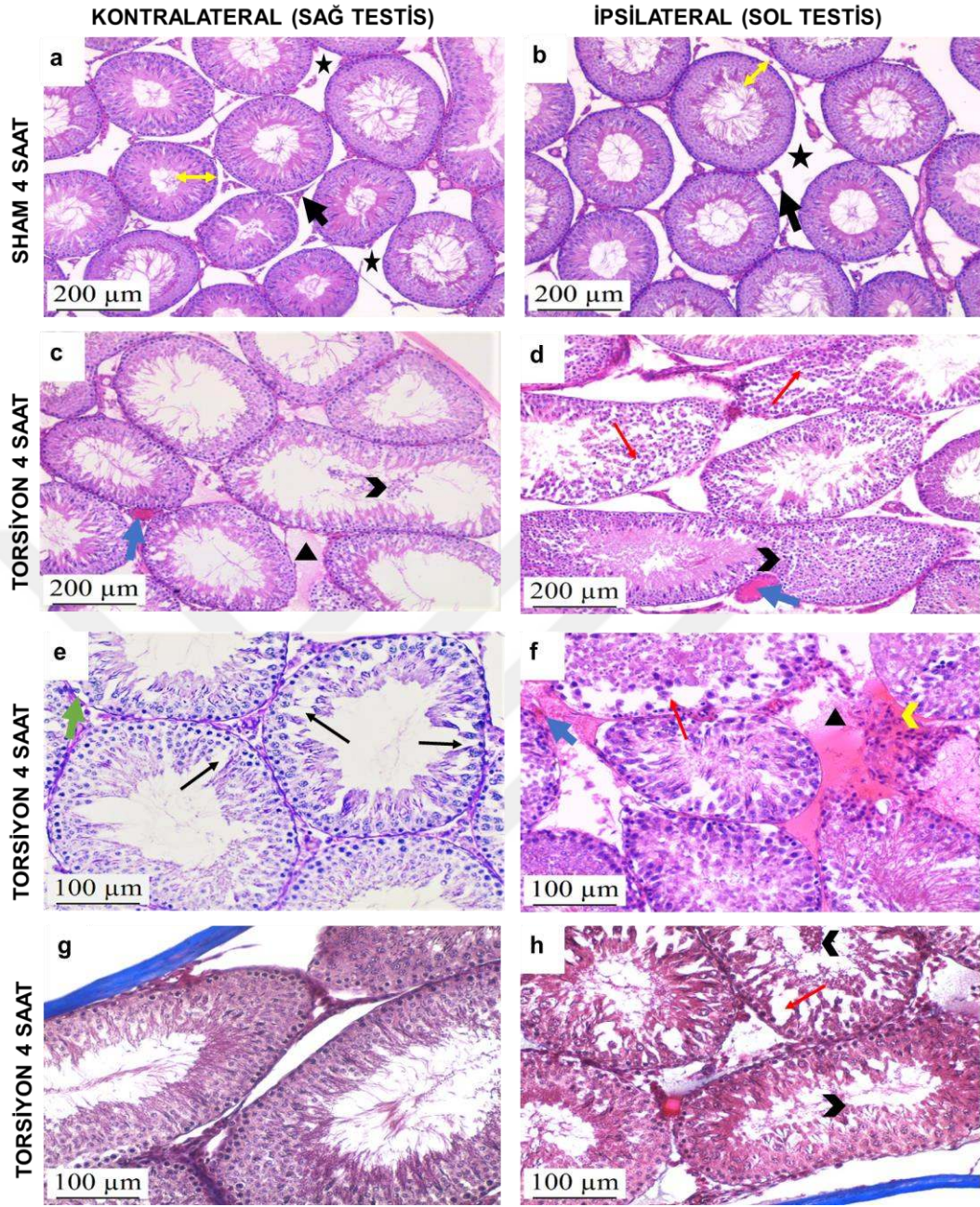


Şekil 13. (a, c, e) Kontrol grubuna ait sağ ve (b, d, f) sol testis dokusu kesitleri. Kontrol grubunda tunika albuginea (kırmızı ok), seminifer tübül epiteli ve spermatogenik seri hücreleri (sarı çift başlı ok), interstisyel alan (yıldız) ve Leydig hücreleri (kalın siyah ok), tübül bazal membranları (ince siyah ok) normal yapıda izlenmekte. (a, b) Mallory-Azan, (c, d) H&E, (e, f) PAS-Hematoksilen.

Sham 4 saat (Şekil 14a, 14b), Sham 24 saat (Şekil 15a, 15b), Sham 7 gün (Şekil 16a, 16b), Sham 14 gün (Şekil 17a, 17b) gruplarına ait sağ ve sol testis kesitlerinde de kontrole benzer şekilde, seminifer tübül epiteli, interstisyel alan ve Leydig hücrelerinin normal yapıda olduğu gözlemlendi.

Torsiyon 4 saat grubuna ait sağ testis dokusunda ödem, vasküler konjesyon (Şekil 14c), kontrole benzer normal görünümde seminifer tüböl kesitlerinin yanı sıra bazı seminifer tüböl epitellerinde spermatogenik seri hücreleri arasında ayrılmalar ve vakuolizasyonlar gözlemlendi (Şekil 14c, 14e, 14g). Bazı seminifer tübüllerde, tüböl lümenine dökülen immatür hücreler izlendi (Şekil 14c). Torsiyon 4 saat grubuna ait sol testis dokusunda ise şiddetli ödem ve vasküler konjesyonun yanı sıra hemoraji de gözlemlendi (Şekil 14f). Seminifer tüböl epitel organizasyonunda bozulma ve dejenerasyonların yanı sıra lümenine dökülen immatür germ hücreleri de belirgin olarak izlendi (Şekil 14c, 14d, 14f, 14h).

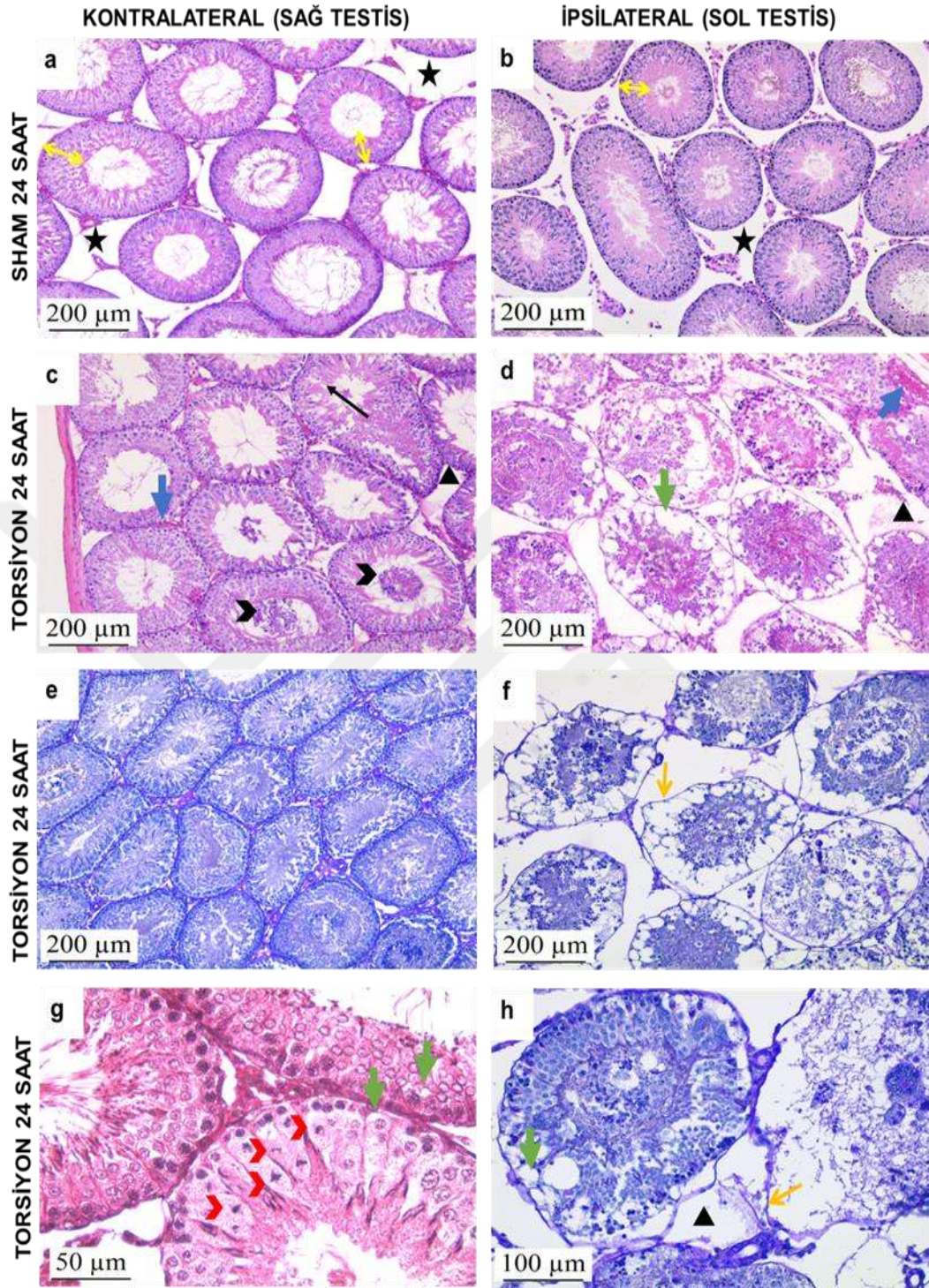




Şekil 14. (a, b) Sham 4 saat, (c, d, e, f, g, h) Torsiyon 4 saat grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitleri. Sham 4 saat grubunda sağ ve sol testislerde normal yapıda seminifer tübül epiteli (sarı çift başlı ok), interstisyel alan (siyah yıldız) ve Leydig hücreleri (siyah kalın ok) izlenmekte. Torsiyon 4 saat grubuna ait sağ ve sol testis dokusunda ödem (siyah üçgen), vasküler konjesyon (mavi kalın ok), lümene dökülen immatür germ hücreleri (siyah ok başı) izlenmekte. Torsiyon 4 saat grubuna ait sağ testis dokusunda spermatogenik seri hücrelerinde vakuolizasyonlar (yeşil ok) ve germ hücreleri arasında ayrılmalar (siyah ince ok) izlenmekte. Torsiyon 4 saat grubuna ait sol testis dokusunda ise hemoraji (sarı ok başı), seminifer tübül epitel organizasyonunda bozulma ve dejenerasyonlar (kırmızı ok) izlenmekte. (a, b, c, d, f) H&E, (e) PAS-Hematoksilen, (g, h) Mallory- Azan.

Torsiyon 24 saat grubuna ait hem sağ ve hem de sol testis dokusu kesitlerinde ödem, vasküler konjesyon (Şekil 15c, 15d) ve seminifer tübüllerde vakuolizasyonlar (Şekil 15d, 15g, 15h) izlendi. Torsiyon 24 saat grubuna ait sağ testis dokusunda ise seminifer tübüllerde sıkıca paketlenme gözlemlendi (Şekil 15e). Bunun yanı sıra seminifer tübül epitelinde spermatogenik seri hücreleri arasında ayrılmalar ve immatür germ hücrelerinde gruplar halinde seminifer tübül lümenine dökölme (Şekil 15c), bazı spermatositlerde ise metafaz arresti (Şekil 15g) göröldü. Torsiyon 24 saat grubuna ait sol testis dokusu kesitlerinde ise seminifer tübül bazal membranında ayrılma ve seminifer tübüllerde dejenerasyonlar gözlemlendi (Şekil 15c).

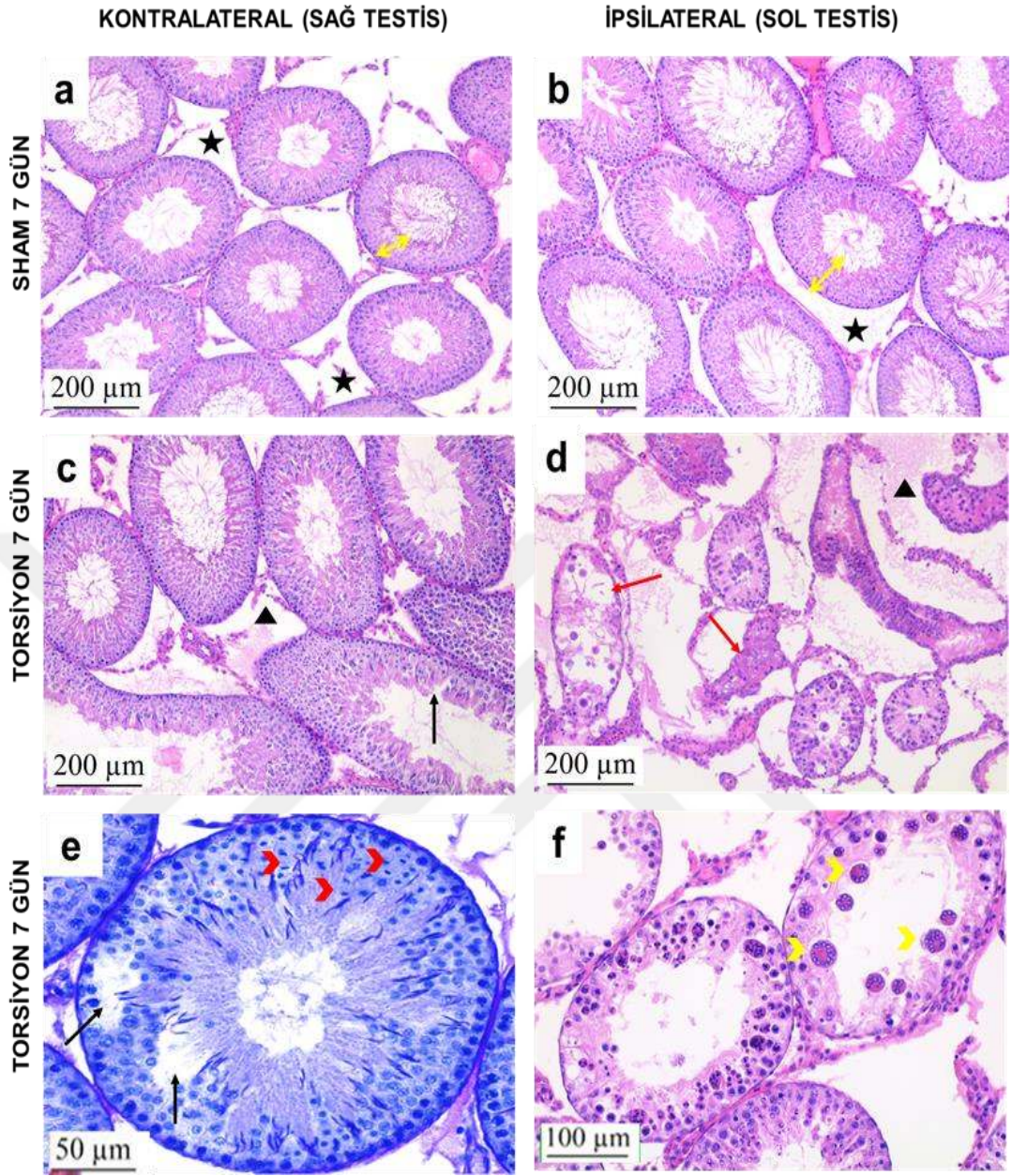




Şekil 15. (a, b) Sham 24saat ve (c, d, e, f, g, h) Torsiyon 24 saat grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitleri. Sham 24 saat grubunda sağ ve sol testislerde normal yapıda seminifer tübül epiteli ve spermatogenik seri hücreleri (sarı çift başlı ok) ve interstisyel alan (siyah yıldız) izlenmekte. Torsiyon 24 saat grubuna ait sağ ve sol testis dokusunda ödem (siyah üçgen), vasküler konjesyon (kalın mavi ok) ve

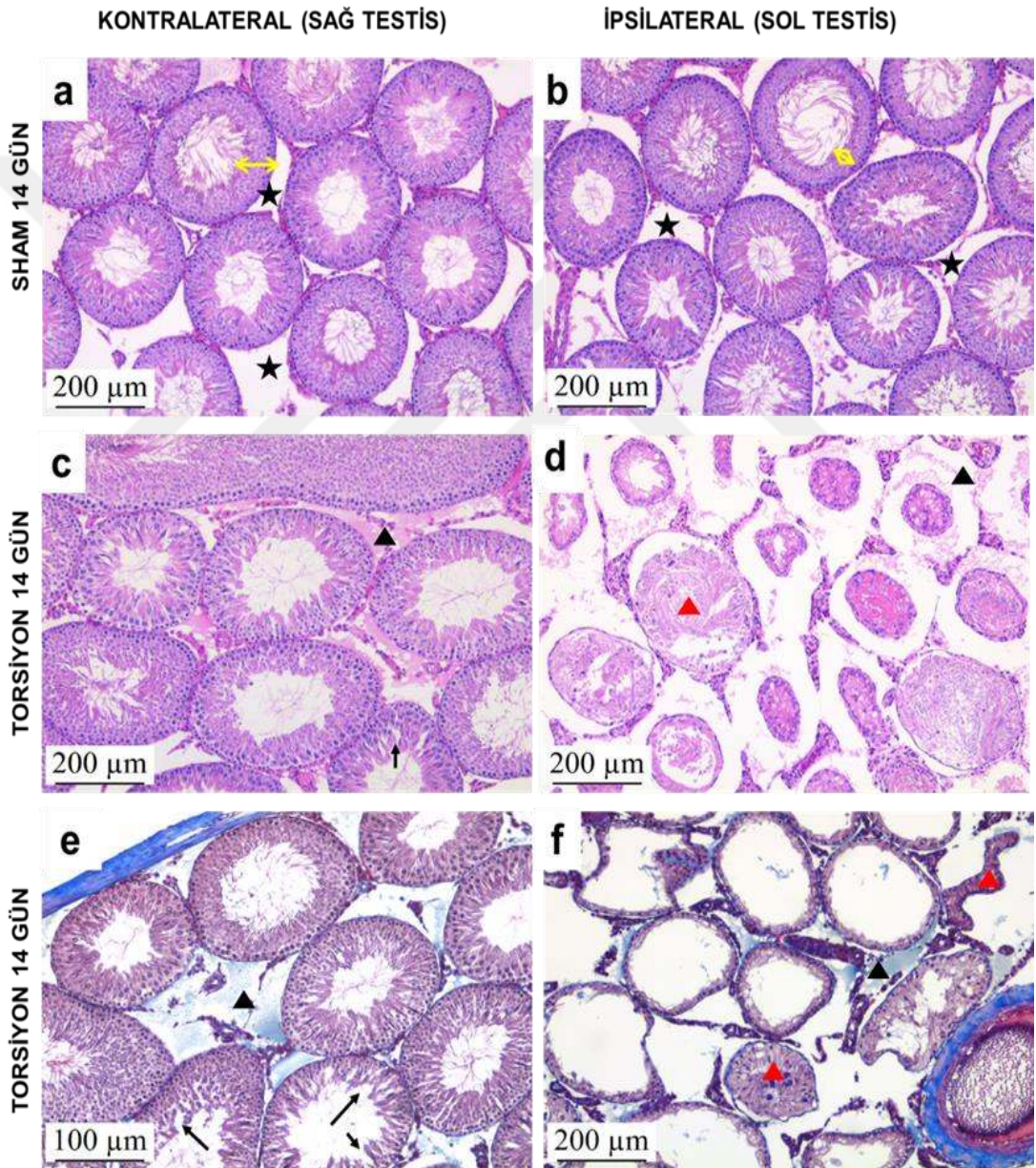
vakuolizasyonlar (kalın yeşil ok) izlenmekte. Torsiyon 24 saat grubuna ait sağ testis dokusu kesitlerinde, seminifer tübüllerde sıkıca paketlenme (e), tübül epitelinde germ hücreleri arasında ayrılmalar (ince siyah ok), bazı spermatositlerde metafaz arresti (kırmızı ok başı) ve lümene dökülen immatür hücreler (siyah ok başı) izlenmekte. Torsiyon 24 saat grubuna ait sol testis dokusu seminifer tübüllerinde dejenerasyonlar ve bazal membranda ayrılmalar (sarı ok) izlenmekte. (a, b, c, d) H&E, (e, f, h) PAS-Hematoksilen, (g) Mallory-Azan, (h).

Torsiyon 7 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusunda ödem (Şekil 16c, 16d), sağ testis dokusu kesitlerinde spermatogenik seri hücrelerinde ayrılmalar (Şekil 16c, 16e) ve torsiyon 24 saat grubuna göre daha fazla seminifer tübülde olmak üzere, bazı spermatositlerde metafaz arresti (Şekil 16e) izlendi. Torsiyon 7 gün grubuna ait sol testis dokusunda ise seminifer tübül dejenerasyonları ve çok çekirdekli dev hücreler (Şekil 16d, 16f) gözlemlendi.



Şekil 16. (a, b) Sham 7 gün ve (c, d, e, f) Torsiyon 7 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitleri. Sham 7 gün grubunda sağ ve sol testislerde normal yapıda seminifer tübül epiteli (sarı çift başlı ok) ve interstisyel alan (siyah yıldız) izlenmekte. Torsiyon 7 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusunda ödem (siyah üçgen), sağ testis dokusunda spermatogenik seri hücrelerinde ayrılmalar (ince siyah ok) ve bazı spermatositlerde metafaz arresti (kırmızı ok başı) izlenmekte. Torsiyon 7 gün grubuna ait sol testis dokusunda seminifer tübüllerde dejenerasyon (kırmızı ok) ve çok çekirdekli dev hücreler (sarı ok başı) gözlenmekte. (a, b, c, d, f) H&E, (e) PAS-Hematoksilen.

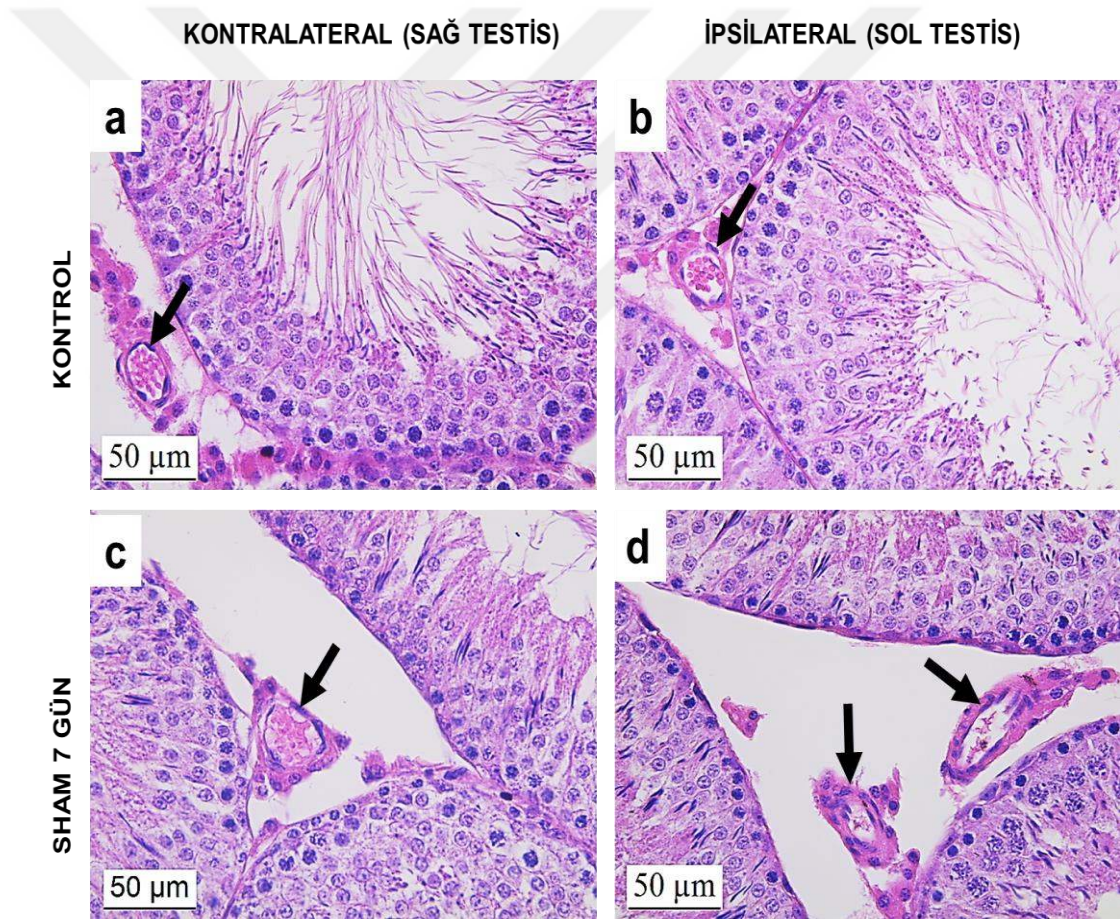
Torsiyon 14 gün grubuna ait hem sağ ve hem de sol testis dokusunda ödem (Şekil 17c, 17d, 17e, 17f) gözlemlendi. Torsiyon 14 gün grubuna ait sağ testis dokusu seminifer tübül epitelinde, çok sayıda kontrole benzer normal yapıda seminifer tübül kesitlerinin yanı sıra bazı seminifer tübül kesitlerinde spermatogenik seri hücrelerinde ayrılmalar (Şekil 17c, 17e) olduğu izlendi. Torsiyon 14 gün grubuna ait sol testis dokusunda ise çok sayıda dejenere ve nekrotik tübüller (Şekil 17d, 17f) olduğu gözlemlendi.



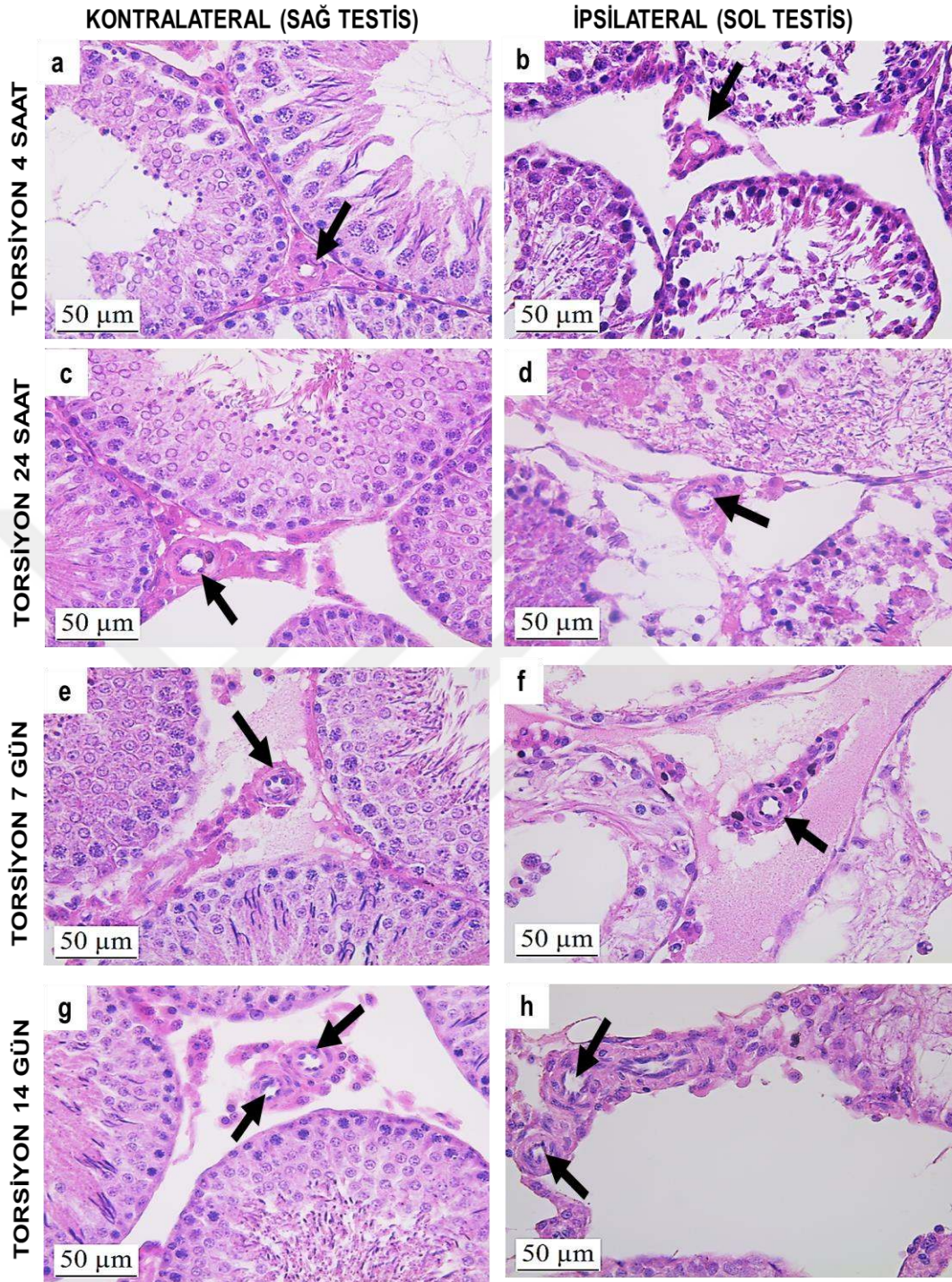
Şekil 17. (a, b) Sham 14 gün ve (c, d, e, f) Torsiyon 14 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitleri. Sham 14 gün grubunda sağ ve sol testislerde normal yapıda

seminifer tübül epiteli ve spermatogenik seri hücreleri (sarı çift başlı ok) ve interstisyel alan (siyah yıldız) izlenmekte. Torsiyon 14 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusunda ödem (siyah üçgen), Torsiyon 14 gün grubuna ait sağ seminifer tübül epitelinde ayrılmalar (siyah ince ok) izlenmekte. Torsiyon 14 gün grubuna ait sol testis dokusunda dejenere ve nekrotik tübüller ayırt edilmekte (kırmızı üçgen). (a, b, c, d) H&E, (e, f) Mallory-Azan.

Kontrol ve Sham gruplarıyla kıyaslandığında (Şekil 18); Torsiyon 4 saat, Torsiyon 24 saat, Torsiyon 7 gün ve Torsiyon 14 gün gruplarına ait sağ testislerde daha belirgin olmak üzere sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde yüksek endotelli venül (YEV) benzeri kan damarlarının bulunduğu dikkat çekti (Şekil 19).



Şekil 18. (a, b) Kontrol grubu ve (c, d) Sham 7 gün grubuna ait sağ ve sol testis doku kesitlerinde interstisyel alanda normal damar yapıları (kalın siyah ok) izlenmekte. H&E



Şekil 19. (a, b) Torsiyon 4 saat, (c, d) Torsiyon 24 saat, (e, f) Torsiyon 7 gün ve (g, h) Torsiyon 14 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde interstisyel alanda yüksek endotelli venül benzeri damar yapıları (kalın siyah ok) izlenmekte. H&E.

3.1.2. Seminifer Tübül Çapı ve Germinal Epitel Kalınlıkları

Seminifer tübül çaplarının (STÇ) istatistiksel analizi sonucu kontralateral (sağ) testislerde kontrole kıyasla Sham 4 saat, Sham 24 saat, Torsiyon 4 saat ve Torsiyon 24 saat gruplarında nispeten azaldığı belirlendi. Ancak aynı saat/güne ait Sham ve Torsiyon grupları kendi aralarında karşılaştırıldıklarında seminifer tübül çapları açısından önemli bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Torsiyon gruplarında ise Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında erken dönemde azalan STÇ'lerin ilerleyen günlerde Kontrol değerlerine yaklaştığı tespit edildi.

İpsilateral (sol) testislerde ise STÇ'lerin Kontrole kıyasla Sham 24 saat, Sham 7 gün, Sham 14 gün, Torsiyon 24 saat, Torsiyon 7 gün ve Torsiyon 14 gün gruplarında azaldığı belirlendi ($p<0,05$). Aynı saat/güne ait Sham ve Torsiyon grupları kendi aralarında karşılaştırıldıklarında Sham 4 saat ve Torsiyon 4 saat grupları arasında seminifer tübül çapları açısından fark gözlenmedi ($p>0,05$). Diğer tüm saat/günlerde ise Torsiyon gruplarına ait STÇ'lerin karşılık gelen Sham gruplarına kıyasla belirgin şekilde azaldığı tespit edildi ($p<0,05$). Torsiyon grupları kendi aralarında kıyaslandıklarında giderek azalan STÇ'lerin Torsiyon 14 gün grubunda en düşük değere ulaştığı görüldü ($p<0,05$).

Germinal epitel kalınlıklarının (GEK) istatistiksel analizi sonucu kontralateral (sağ) testislerde gruplar arası anlamlı bir değişim tespit edilmedi ($p>0,05$). İpsilateral (sol) testislerde ise Kontrole kıyasla Sham grupları, Torsiyon 4 saat ve Torsiyon 24 saat gruplarında GEK açısından fark görülmedi ($p>0,05$). Torsiyon 7 gün ve Torsiyon 14 gün gruplarında ise GEK'lerin tüm gruplara kıyasla anlamlı şekilde azaldığı belirlendi ($p<0,05$) (Tablo 8).

Tablo 8. Testis dokusuna ait seminifer tübül çapı ve germinal epitel kalınlığı skorları tablosu

	İpsilateral (Sol)		Kontralateral (Sağ)	
	Germinal Epitel Kalınlığı	Seminifer Tübül Çapı	Germinal Epitel Kalınlığı	Seminifer Tübül Çapı
Kontrol	86,471±1,370 ^{h,i}	302,974±2,887	88,695±1,639	311,429±4,265
Sham 4 Saat	75,666±3,728 ^{h,i}	295,199±3,378 ^c	80,241±1,384	273,923±3,335 ^{a,d,e}
Sham 24 Saat	78,473±0,957 ^{h,i}	262,833±2,381 ^{a,b,d,e}	79,425±1,494	287,465±4,026 ^a
Sham 7 Gün	74,713±1,138 ^{h,i}	282,321±3,089 ^{a,c}	81,946±1,071	299,952±4,350 ^{b,c}
Sham 14 Gün	78,192±1,374 ^{h,i}	283,985±2,714 ^{a,c}	80,022±5,515	302,930±3,457 ^b
Torsiyon 4 Saat	77,609±1,678 ^{h,i}	305,972±2,866 ^{c,d,e}	78,118±1,114	284,160±2,985 ^{a,c}
Torsiyon 24 Saat	79,517±1,366 ^{h,i}	268,470±3,285 ^{a,b,c,f}	79,243±1,423	273,233±4,361 ^{a,d,e}
Torsiyon 7 Gün	63,905±3,505 ⁱ	256,646±6,273 ^{a,b,d,e,f}	85,538±1,360	295,991±3,512 ^{b,g}
Torsiyon 14 Gün	32,839±1,314 ^h	198,061±3,005 ^{a,b,c,d,e,f,g,h}	87,054±1,602	305,627±3,879 ^{b,c,f,g}
p Değeri	0,001	0,000	0,089	0,000

Değerler ortalama ± standart hata olarak sunulmuştur. ^a: Kontrol grubuna kıyasla; ^b: Sham 4 saat grubuna kıyasla; ^c: Sham 24 saat grubuna kıyasla; ^d: Sham 7 gün grubuna kıyasla; ^e: Sham 14 gün; ^f: Torsiyon 4 saat grubuna kıyasla; ^g: Torsiyon 24 saat grubuna; ^h: Torsiyon 7 gün grubuna; ⁱ: Torsiyon 14 gün grubuna kıyasla p<0.05.

3.1.3. Johnsen ve Cosentino Skorlamaları

Testis dokusunda meydana gelen histopatolojik değişikliklerin göstergesi olan Cosentino skorlaması sonucu kontralateral (sağ) testislerde kontrol ve sham grupları arasında fark tespit edilmedi ($p>0,05$). İpsilateral (sol) testislerde ise kontrol grubu ve Sham gruplarının Cosentino skorları benzerdi ($p>0,05$). Torsiyon 7 gün ve Torsiyon 14 gün gruplarında Kontrole kıyasla Cosentino skorunun anlamlı düzeyde arttığı görüldü ($p<0,05$).

Spermatogenezisin değerlendirilmesinde kullanılan bir ölçek olan Johnsen skorlamasının istatistiksel analizinde hem kontralateral (sağ) hem de ipsilateral (sol) testislerde Kontrol grubu ile Sham grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Torsiyon gruplarının tamamında ise Kontrol ile karşılaştırıldığında belirgin azalma saptandı ($p<0,05$). Öte yandan ipsilateral (sol) testislerde Torsiyon 7 gün ve Torsiyon 14 gün gruplarında diğer torsiyon gruplarına kıyasla Johnsen skorunda azalma tespit edildi ($p<0,05$) (Tablo 9).

Tablo 9: Histopatolojik skor tablosu

	İpsilateral (Sol)		Kontralateral(Sağ)	
	Johnsen's Score	Cosentino Score	Johnsen's Score	Cosentino Score
Kontrol	9,660±0,068	1,20±0,447	9,680±0,067	1,20±0,44
Sham 4 Saat	9,280±0,064	1,40±0,548	9,500±0,071	1,40±0,54
Sham 24 Saat	9,260±0,063	1,60±0,548	9,440±0,071	1,60±0,54
Sham 7 Gün	9,300±0,065	1,60±0,548	9,480±0,071	1,20±0,44
Sham 14 Gün	9,300±0,065	1,20±0,447	9,520±0,071	1,00±0,00
Torsiyon 4 Saat	5,720±0,125 ^{a,b,c,d,e}	2,60±0,548	6,640±0,098 ^{a,b,c,d,e}	1,80±0,83
Torsiyon 24 Saat	4,520±0,174 ^{a,b,c,d,e,f}	2,80±0,447	6,080±0,223 ^{a,b,c,d,e}	2,40±0,54
Torsiyon 7 Gün	2,740±0,131 ^{a,b,c,d,e,f,g}	3,60±0,548 ^{a,b,e}	4,860±0,131 ^{a,b,c,d,e}	2,60±0,54
Torsiyon 14 Gün	3,180±0,093 ^{a,b,c,d,e,f,g}	3,80±0,447 ^{a,b,c,d,e}	4,940±0,105 ^{a,b,c,d,e}	3,00±0,70
p Değeri	0,000	0,000	0,000	0,000

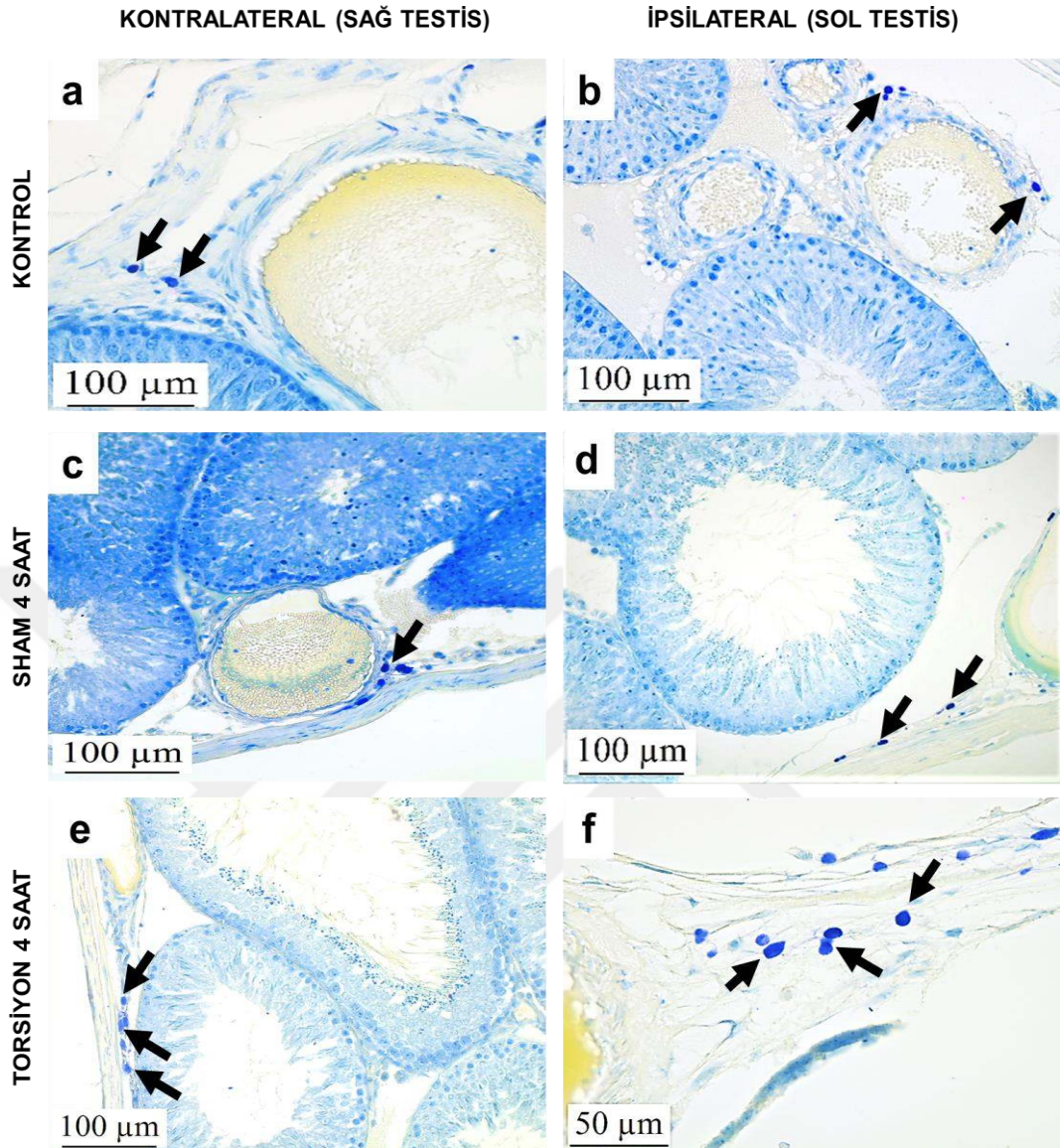
Değerler ortalama ± standart hata olarak sunulmuştur. ^a: Kontrol grubuna kıyasla; ^b: Sham 4 saat grubuna kıyasla; ^c:Sham 24 saat grubuna kıyasla; ^d:Sham 7 gün grubuna kıyasla; ^e: Sham 14 gün; ^f: Torsiyon 4 saat grubuna kıyasla; ^g:Torsiyon 24 saat grubuna; ^h:Torsiyon 7 gün grubuna kıyasla; ⁱ:Torsiyon 14 gün grubuna kıyasla p<0.05.

3.1.4. Toluidin Mavisi Boyaması (Mast Hücre Tesbiti)

Toluidin mavisi ile metakromatik boyanmaları sonucu sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde mast hücreleri özellikle tunika albuginea yakınlarında ve kan damarlarının çevresinde kolaylıkla gözlemlendi.

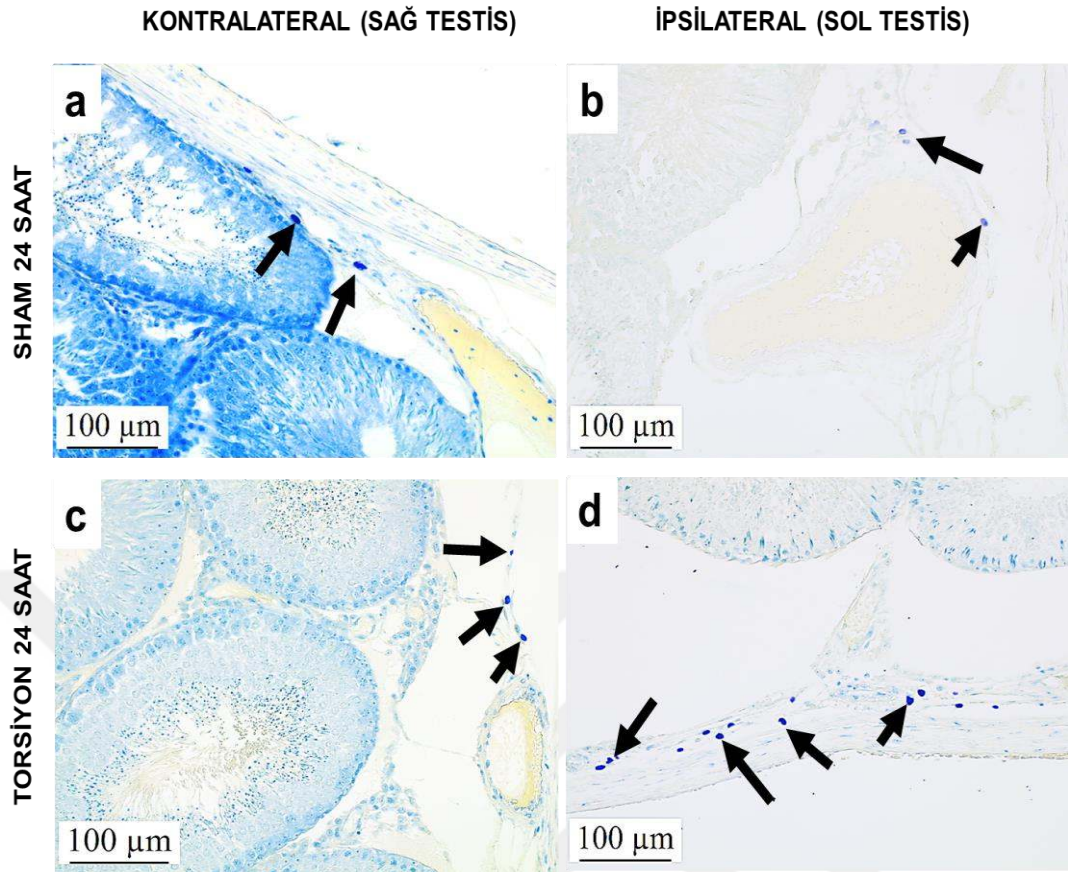
Sham 4 saat (Şekil 20c, 20d), Sham 24 saat (Şekil 21a, 21b), Sham 7 gün (Şekil 22a, 22b) ve Sham 14 gün (Şekil 23a, 23b) gruplarına ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde mast hücrelerinin görünüm ve dağılımının kontrol sağ ve sol testis (Şekil 20a, 20b) dokularına benzer bir biçimde olduğu belirlendi.

Torsiyon 4 saat grubuna ait sağ testis dokusu kesitlerinde mast hücreleri, özellikle kan damarları çevresinde, kontrol ve sham 4 saat gruplarındaki sağ ve sol testis mast hücrelerine benzer sayıda gözlemlendi. Torsiyon 4 saat grubuna ait sol testis dokusu kesitlerinde ise mast hücre sayısının kontrol ve sham 4 saat gruplarına göre arttığı belirlendi (Şekil 20e, 20f).



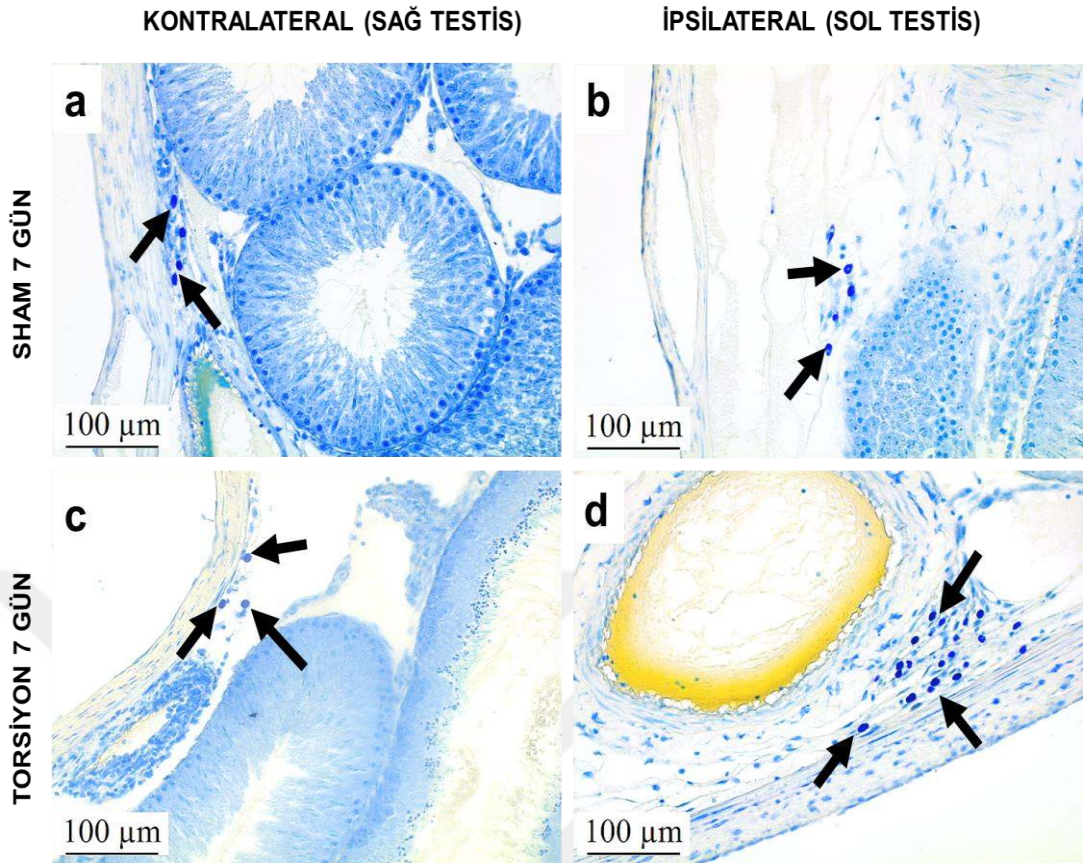
Şekil 20. (a, b) Kontrol grubu, (c, d) Sham 4 saat grubu ve (e, f) Torsiyon 4 saat grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde mast hücreleri (siyah kalın ok) izlenmekte. Toluidin mavisi.

Torsiyon 24 saat grubuna ait sağ testis dokusu kesitlerinde (Şekil 21c) mast hücreleri, Sham 24 saat gruplarındaki sağ ve sol testis mast hücrelerine benzer bir şekilde gözlemlendi (Şekil 21a, 21b,). Torsiyon 24 saat grubuna ait sol testis dokusu kesitlerinde (Şekil 21d) ise mast hücre sayısının kontrol ve sham 24 saat gruplarına göre artmış olduğu gözlemlendi (Şekil 20a, 20b, 21a, 21b).



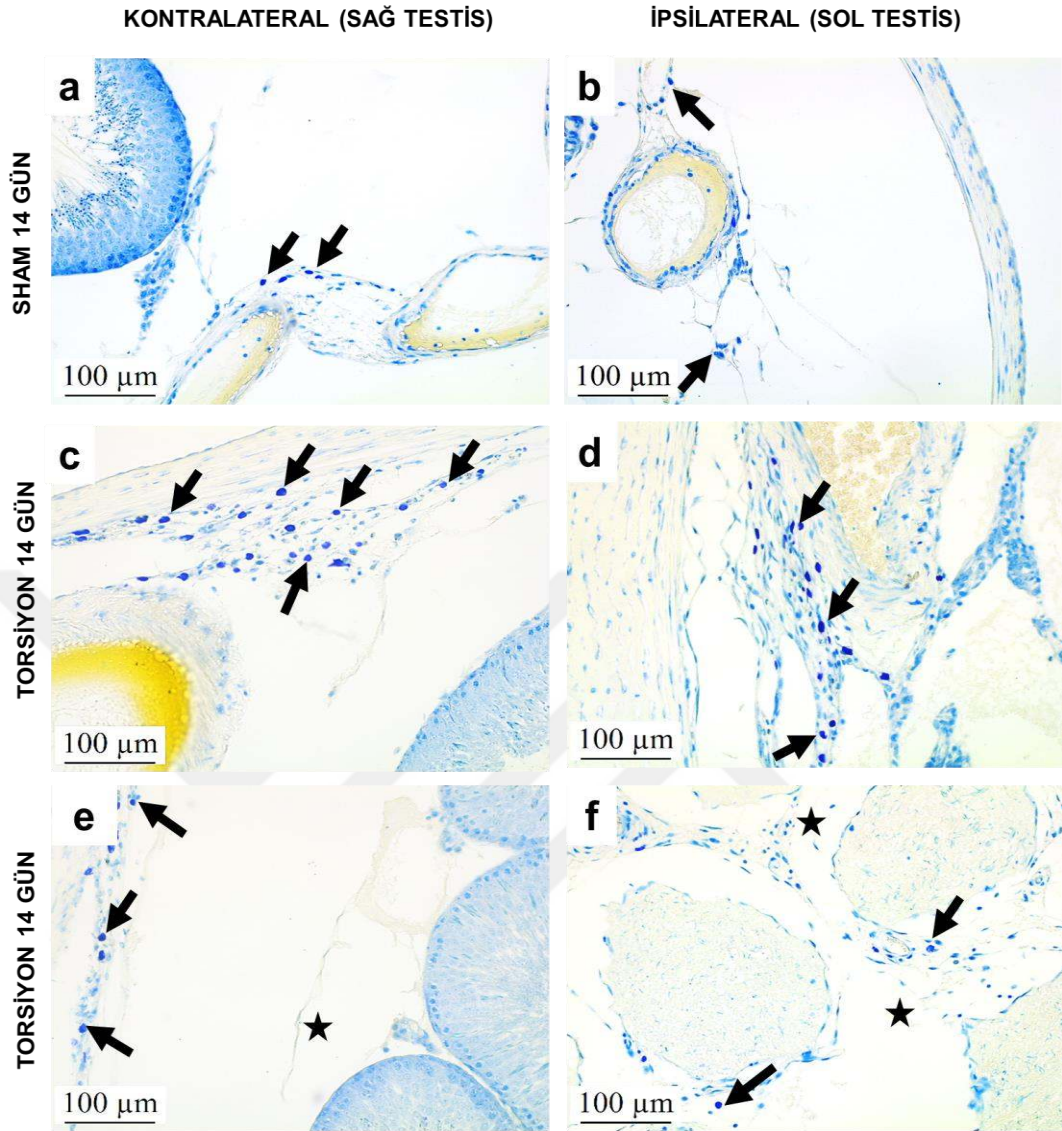
Şekil 21. (a, b) Sham 24 saat grubu ve (c, d) Torsiyon 24 saat grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde mast hücreleri (siyah kalın ok) izlenmekte. Toluidin mavisi.

Torsiyon 7 gün grubuna ait sağ testis dokusu kesitlerinde (Şekil 22c) mast hücreleri, Sham 7 gün gruplarındaki sağ ve sol testis mast hücrelerine benzer şekilde gözlemlendi (Şekil 22a,22b,). Torsiyon 7 gün grubuna ait sol testis dokusu kesitlerinde (Şekil 22d) ise mast hücre sayısının Kontrol ve Sham 24 saat gruplarına göre artmış olduğu gözlemlendi (Şekil 20a, 20b, 21a, 21b).



Şekil 22. (a, b) Sham 7gün grubu ve (c, d) Torsiyon 7 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde mast hücreleri (siyah kalın ok) izlenmekte. Toluidin mavisi.

Torsiyon 14 gün grubuna ait sağ testis dokusu kesitlerinde (Şekil 23c) mast hücreleri, Kontrol ve Sham gruplarındaki sağ testis dokusu kesitlerindeki mast hücrelerine göre sayıca artmış olarak izlendi (Şekil 20a, 20b, 21a, 21b). Aynı şekilde Torsiyon 14 gün grubuna ait sol testis dokusu kesitlerinde (Şekil 23d) de mast hücre sayısının Kontrol ve Sham gruplarına göre artmış olduğu gözlemlendi (Şekil 20a, 20b, 21a, 21b). Bunun yanı sıra diğer gruplardan farklı olarak Torsiyon 14 gün grubuna ait sol testis dokusu kesitlerinde nekrotik ya da dejenere seminifer tübüller arasındaki interstisyel alanlarda da çok sayıda mast hücresi tespit edildi (Şekil 23f).



Şekil 23. (a, b) Sham 14 gün grubu ve (c, d, e, f) Torsiyon 14 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde mast hücreleri (siyah kalın ok) izlenmekte. İnterstisyel alan (yıldız). Toluidin mavisi.

İnflamasyon, doku onarımı ve fibrozisin göstergelerinden biri olan ve gevşek bağ dokusunda bulunan Mast hücrelerinin testis dokusu kesitlerindeki sayımı sonucunda kontralateral (sağ) testislerde, Kontrol grubu ile Sham grupları, Torsiyon 4 saat, Torsiyon 24 saat ve Torsiyon 7 gün grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Ancak Kontrol grubu ile kıyaslandığında Torsiyon 14 gün grubunda Mast hücre sayısında artış tespit edildi ($p<0,05$).

İpsilateral (sol) testislerde ise Kontrol grubu ve Sham grupları arasında Mast hücre sayıları açısından önemli bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Kontrol

grubuna kıyasla Torsiyon gruplarında Mast hücrelerinin sayısında belirgin artış tespit edildi ($p<0,05$). Aynı saat/güne ait Sham ve Torsiyon grupları kendi aralarında karşılaştırıldıklarında, Torsiyon gruplarında Sham gruplarına göre Mast hücre sayılarının arttığı saptandı ($p<0,05$). Tüm gruplara ait ortalama Mast hücresi sayıları Tablo 10’de sunuldu.

Tablo 10. Mast Hücre Değerlendirmesi

	İpsilateral (sol)	Kontralateral (sağ)
	Mast Hücre Değerleri	Mast Hücre Değerleri
Kontrol	25,40±1,03 ^{h,g,h,i}	29,60±3,66 ⁱ
Sham 4 saat	23,200±1,28 ^{f,g,h,i}	24,20±2,26 ⁱ
Sham 24 saat	24,60±0,81 ^{f,g,h,i}	24,60±0,67 ⁱ
Sham 7 gün	23,80±1,11 ^{f,g,h,i}	24,40±1,77 ⁱ
Sham 14 gün	23,60±0,51 ^{f,g,h,i}	25,00±1,58 ⁱ
Torsiyon 4 saat	36,00±1,64 ⁱ	25,00±2,40 ⁱ
Torsiyon 24 saat	48,20±2,40 ⁱ	22,20±0,37 ⁱ
Torsiyon 7 gün	47,80±2,08 ⁱ	24,80±2,20 ⁱ
Torsiyon 14 gün	38,22±5,47	45,40±2,31
p Değeri	0,000	0,000

Değerler ortalama ± standart hata olarak sunulmuştur. ^a: Kontrol grubuna kıyasla; ^b: Sham 4 saat grubuna kıyasla; ^c:Sham 24 saat grubuna kıyasla; ^d:Sham 7 gün grubuna kıyasla; ^e: Sham 14 gün; ^f: Torsiyon 4 saat grubuna kıyasla; ^g:Torsiyon 24 saat grubuna; ^h:Torsiyon 7 gün grubuna kıyasla; ⁱ:Torsiyon 14 gün grubuna kıyasla $p<0.05$.

3.2. TUNEL Bulguları

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskobu düzeyinde incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği testis dokusunda germinal epiteldeki spermatogenetik seri hücrelerinde gözlemlendi.

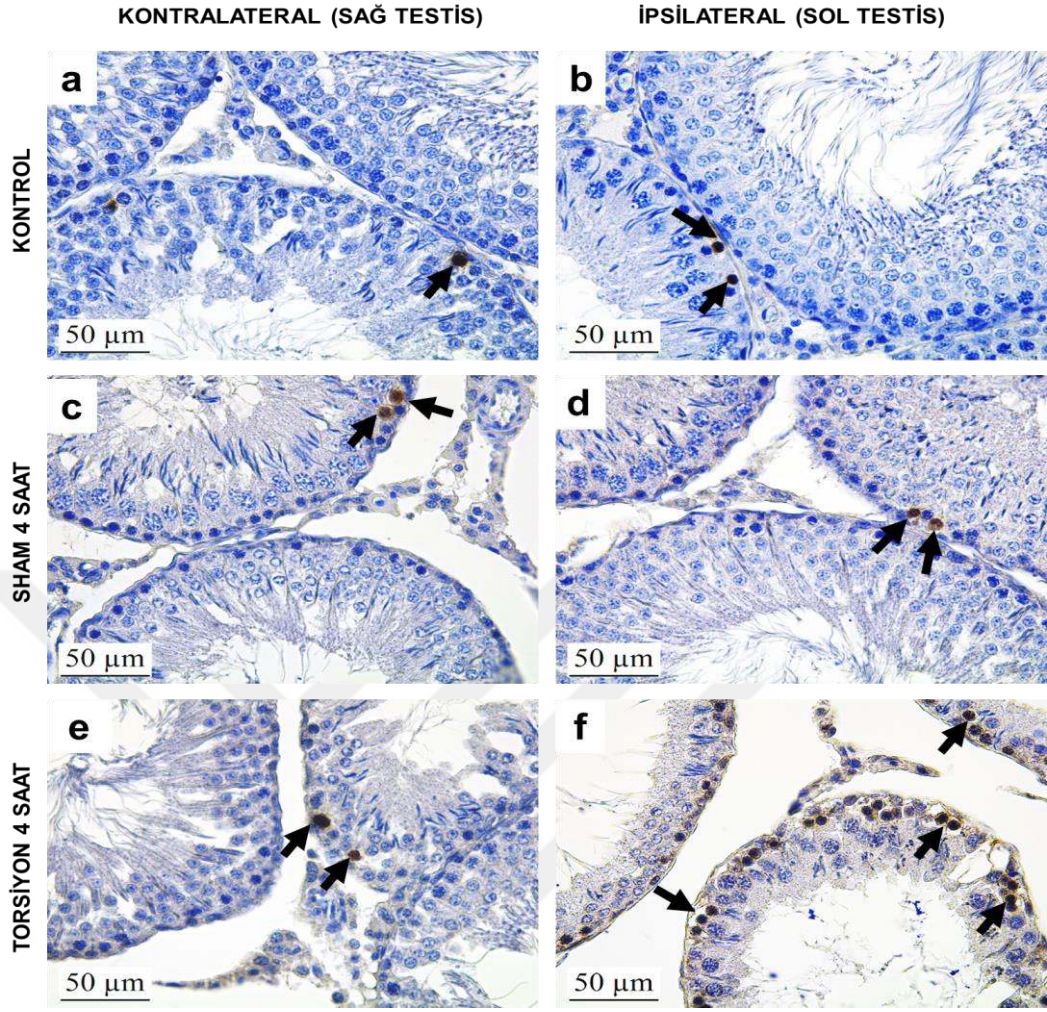
Kontralateral (sağ) testislerde apoptotik hücre sayısı açısından gruplar arası anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$).

İpsilateral (sol) testislerde ise yalnızca Torsiyon 24 saat ve Torsiyon 7 gün gruplarında diğer gruplara kıyasla TUNEL pozitif hücre sayısı açısından anlamlı bir artış bulundu ($p<0,05$) (Şekil 24, 25, 26, 27). Tüm gruplara ait apoptotik indeks değerleri Tablo 11’de sunuldu.

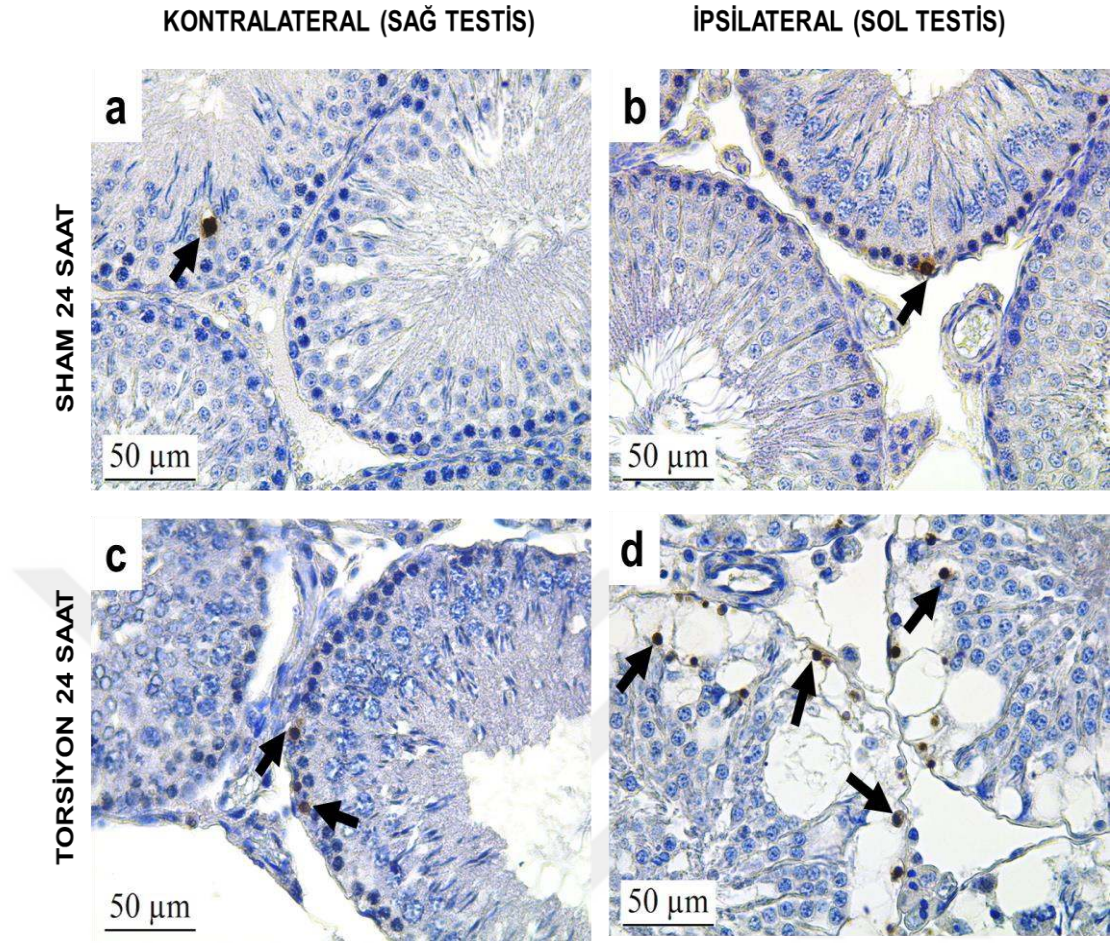
Tablo 11. Apoptotik indeks (%)

	İpsilateral (Sol)	Kontralateral (Sağ)
	Apoptotik indeks (%)	Apoptotik indeks (%)
Kontrol	1,80±0,04	1,80±0,61
Sham 4 Saat	1,60±0,13	0,90±0,31
Sham 24 Saat	2,00±0,09	0,90±0,31
Sham 7 Gün	3,60±0,08	3,10±0,79
Sham 14 Gün	2,20±0,05	1,90±0,37
Torsiyon 4 Saat	1,70±0,03	1,10±0,40
Torsiyon 24 Saat	12,90±0,30 ^{a,b,c,d,e,f,i}	1,60±0,52
Torsiyon 7 Gün	16,70±0,15 ^{a,b,c,d,e,f,i}	2,60±0,58
Torsiyon 14 Gün	3,00±0,08	4,70±1,29
p Değeri	0,000	0,067

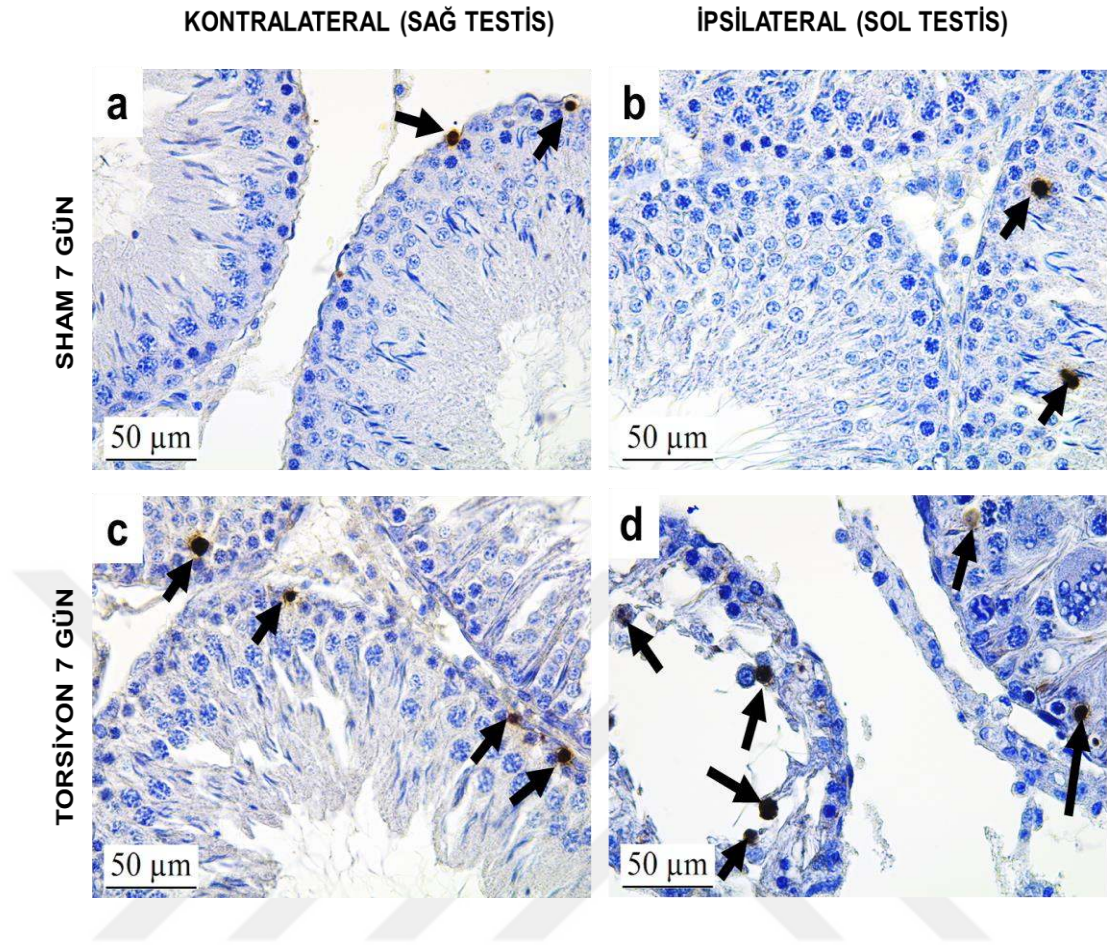
Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak sunulmuştur. ^a: Kontrol grubuna kıyasla; ^b: Sham 4 saat grubuna kıyasla; ^c:Sham 24 saat grubuna kıyasla; ^d:Sham 7 gün grubuna kıyasla; ^e: Sham 14 gün; ^f: Torsiyon 4 saat grubuna kıyasla; ^g:Torsiyon 24 saat grubuna; ^h:Torsiyon 7 gün grubuna kıyasla; ⁱ:Torsiyon 14 gün grubuna kıyasla $p<0.05$.



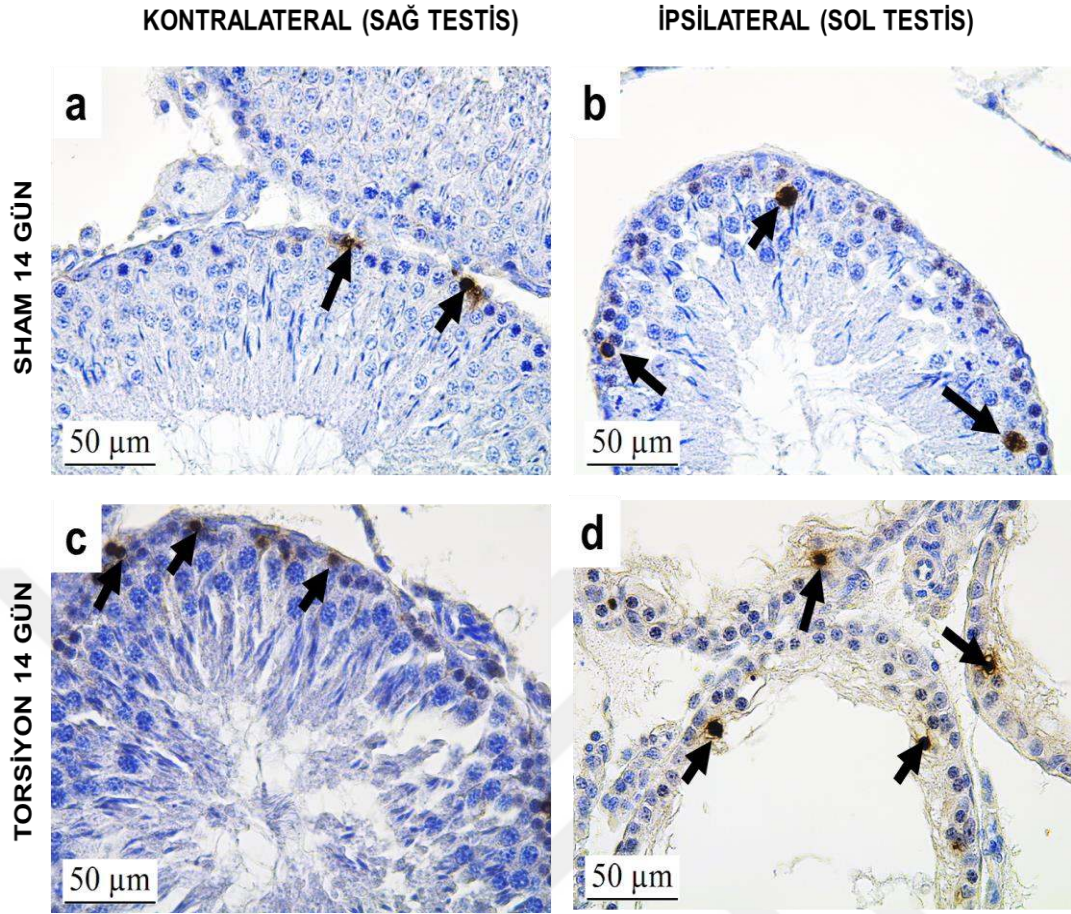
Şekil 24. (a, b) Kontrol grubuna, (c, d) Sham 4 saat grubuna ve (e, f) Torsiyon 4 saat grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde apoptotik hücreler (siyah kalın ok). TUNEL pozitif hücrelerin çekirdekleri kahverengi boyanma göstermektedir.



Şekil 25. (a, b) Sham 24 saat grubuna, (c, d) Torsiyon 24 saat grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde apoptotik hücreler (siyah kalın ok). TUNEL pozitif hücrelerin çekirdekleri kahverengi boyanma göstermektedir.



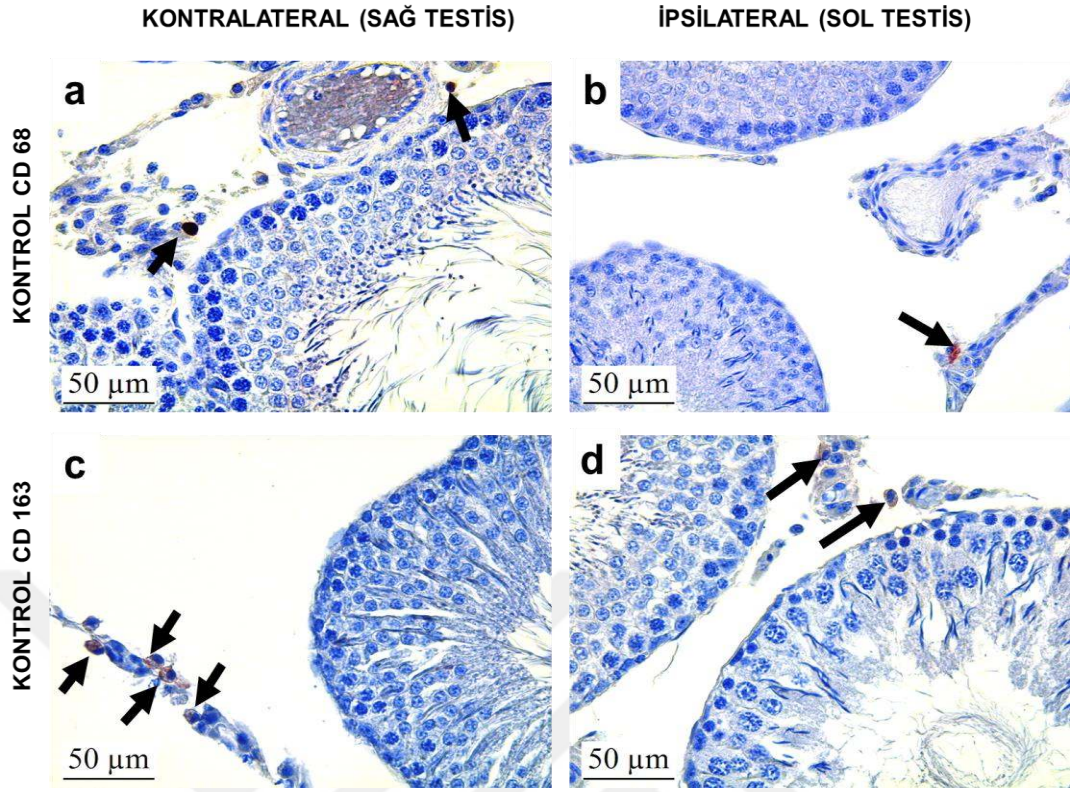
Şekil 26. (a, b) Sham 7 gün grubuna, (c, d) Torsiyon 7 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde apoptotik hücreler (siyah kalın ok). TUNEL pozitif hücrelerin çekirdekleri kahverengi boyanma göstermektedir.



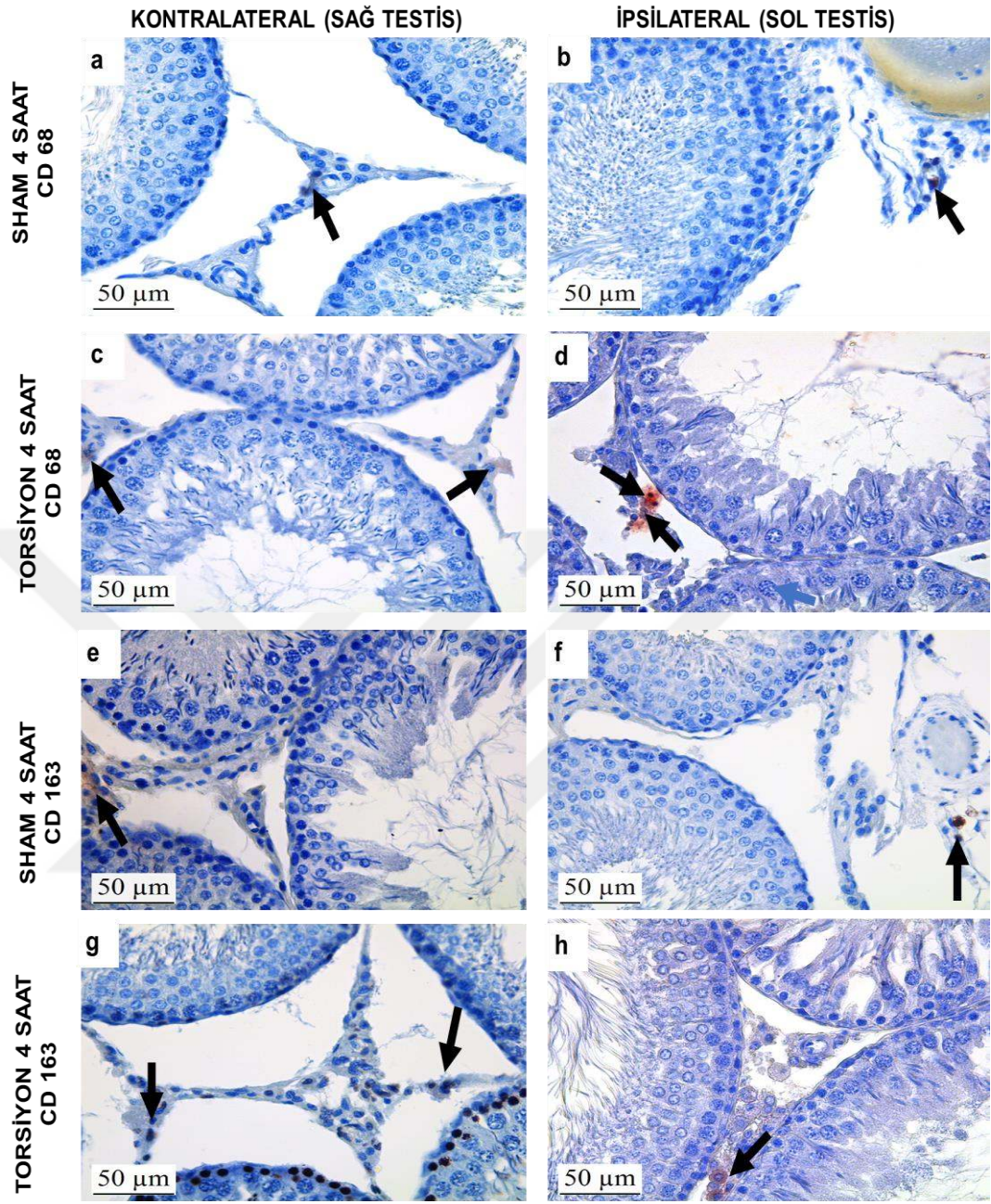
Şekil 27. (a, b) Sham 14 gün grubuna, (c, d) Torsiyon 14 gün grubuna ait sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde apoptotik hücreler (siyah kalın ok). TUNEL pozitif hücrelerin çekirdekleri kahverengi boyanma göstermektedir.

3.3. İmmünohistokimyasal Boyamalar

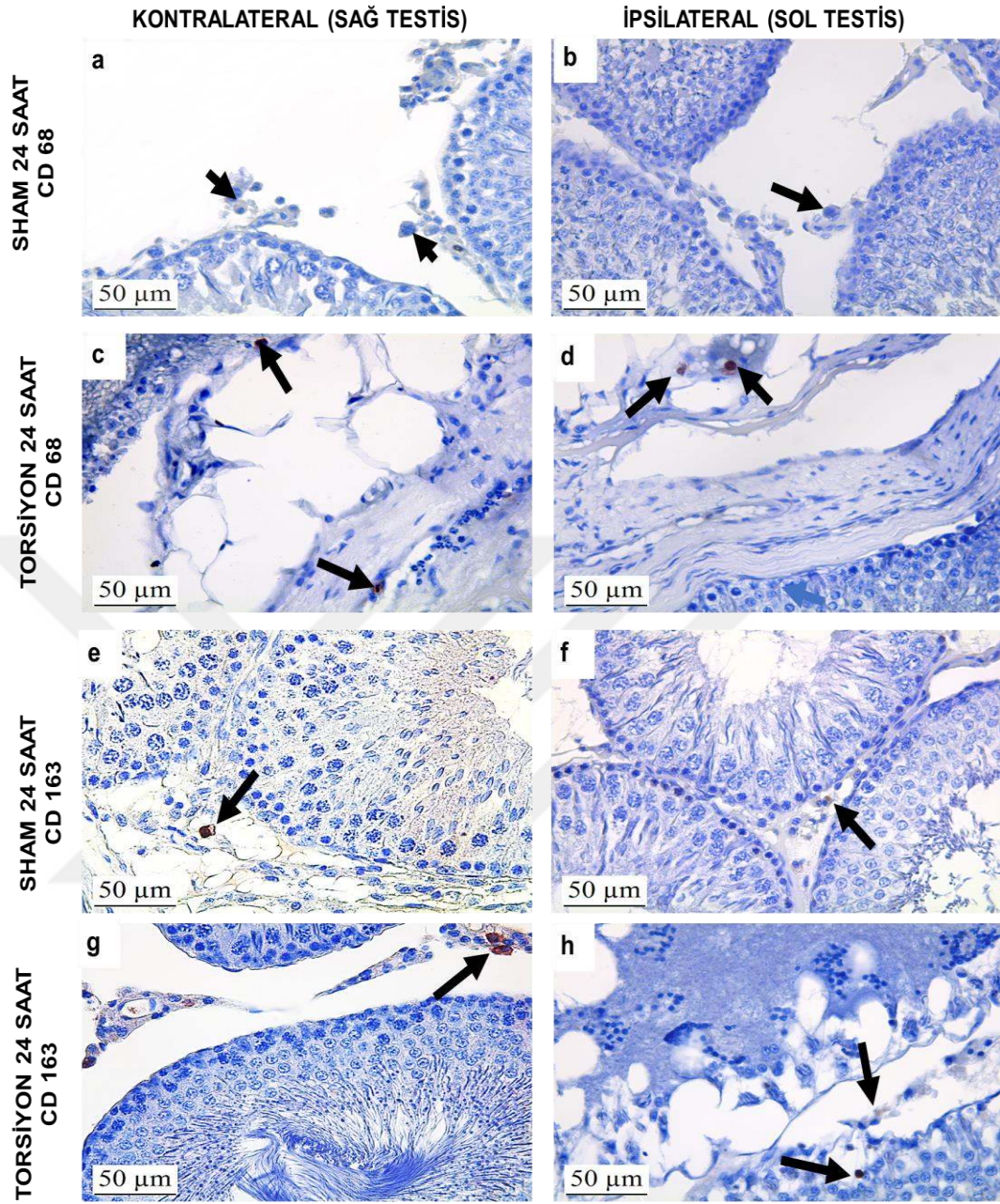
Kontrol (Şekil 28), Sham (Şekil 29a, 29b, 29e, 29f, 30a, 30b, 30e, 30f, 31a, 31b, 31e, 31f, 32a, 32b, 32e, 32f) ve Torsiyon (Şekil 29c, 29d, 29g, 29h, 30c, 30d, 30g, 30h, 31c, 31d, 31g, 31h, 32c, 32d, 32g, 32h) gruplarına ait testis dokusu kesitlerinde M1/M2 makrofaj polarizasyonunun tespiti için yapılan immünohistokimyasal boyamaların ışık mikroskopik düzeyde incelenmesi sonucu hem CD68 hem de CD163 immünreaktiviteyi interstisyel alanda gözlemlendi.



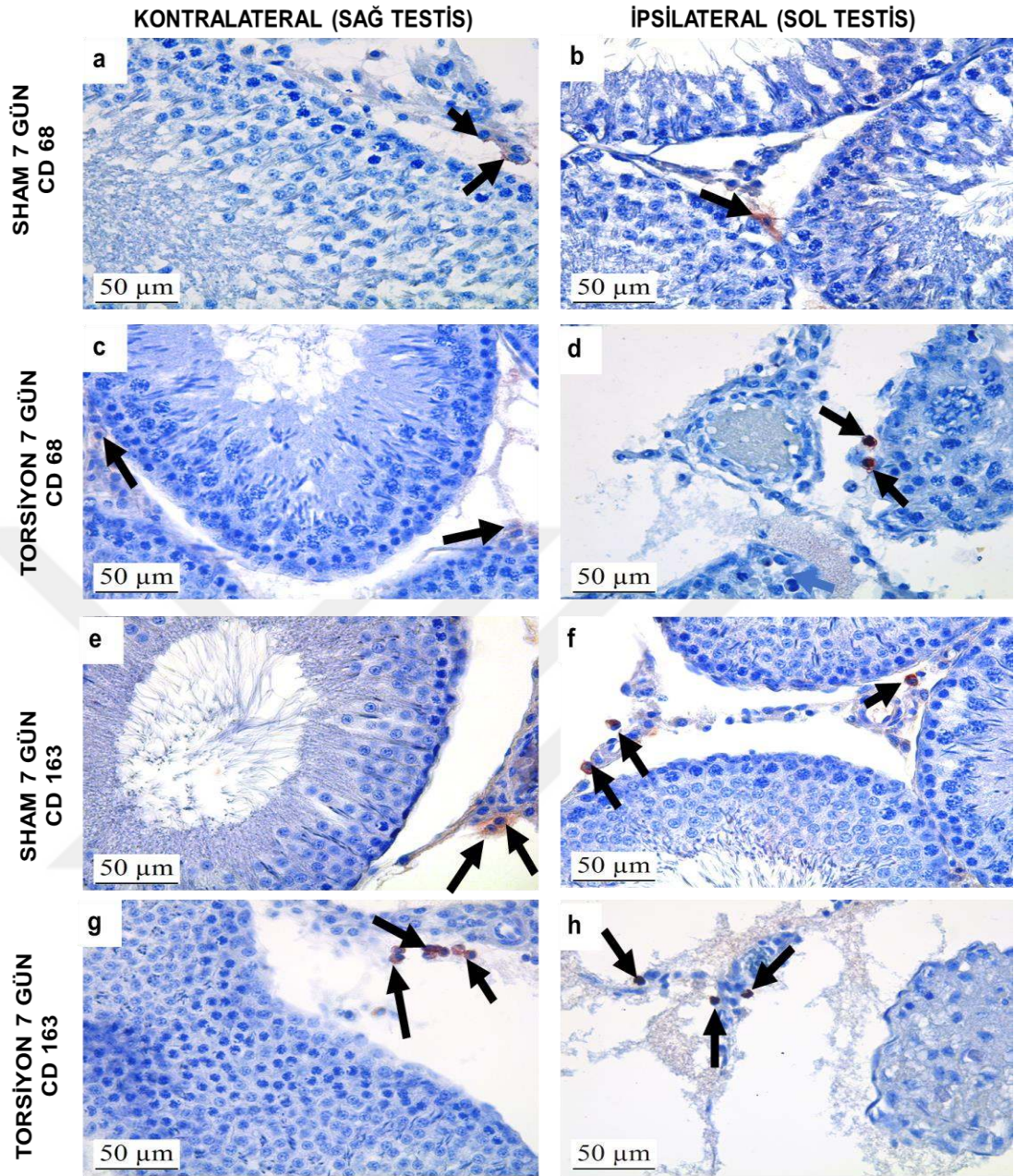
Şekil 28. Kontrol grubu sağ ve sol testis dokusunda (a,b) CD 68, (c,d) CD 163 immünreaktivitesi (siyah ok) izlenmekte.



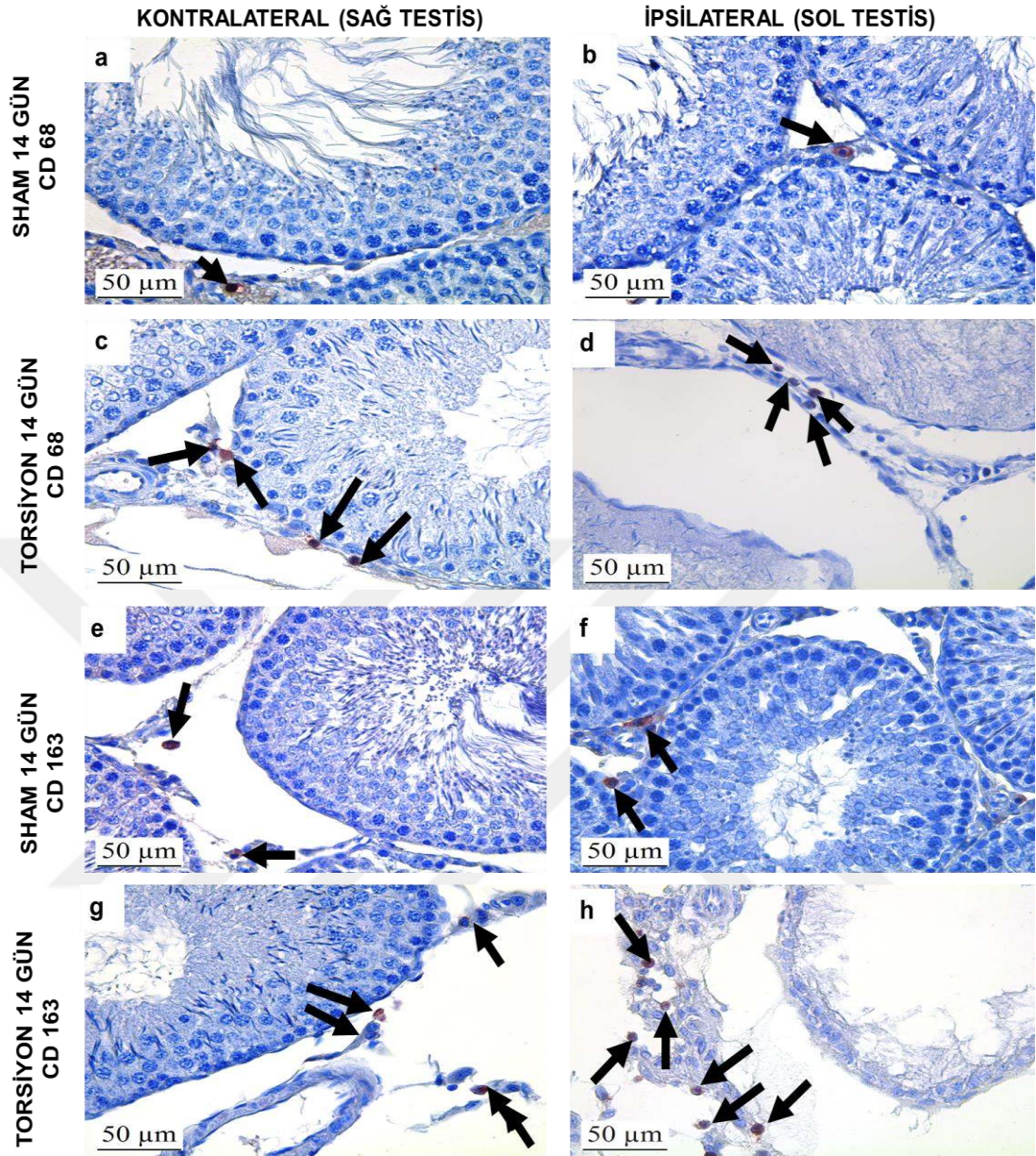
Şekil 29. Sağ ve sol testis dokularında (a,b) Sham 4 saat grubu CD 68, (c,d) Torsiyon 4 saat grubu CD 68, (e,f) Sham 4 saat grubu CD 163, (g,h) Torsiyon 4 saat grubu CD 163 immünreaktivite (siyah ok) izlenmekte.



Şekil 30. Sağ ve sol testis dokularında (a,b) Sham 24 saat grubu CD 68, (c,d) Torsiyon 24 saat grubu CD 68, (e,f) Sham 24 saat grubu CD 163, (g,h) Torsiyon 24 saat grubu CD 163 immünreaktivite (siyah ok) izlenmekte.



Şekil 31. Sağ ve sol testis dokularında (a,b) Sham 7 gün grubu CD 68, (c, d) Torsiyon 7 gün grubu CD 68, (e, f) Sham 7 gün grubu CD 163, (g,h) Torsiyon 7 gün grubu CD 163 immünreaktiviteleri (siyah ok) izlenmekte.



Şekil 32. Sağ ve sol testis dokularında (a,b) Sham 14 gün grubu CD 68, (c,d) Torsiyon 14 gün grubu CD 68, (e,f) Sham 14 gün grubu CD 163, (g,h) Torsiyon 14 gün grubu CD 163 immünreaktivitesi (siyah ok) izlenmekte.

Testis dokusunda interstisyel alanda yer alan M1 makrofaj belirteçlerinden olan CD 68 ve M2 makrofaj belirteçlerinden olan CD 163'ün immünreaktiviteleri için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopik düzeyde incelenmesi sonucunda tüm gruplara ait CD68 ve CD 163 histoskorları Tablo 12'de sunulmuştur.

İpsilateral (sol) testis dokularında CD 68 immünreaktivitesini değerlendirdiğimizde, Kontrol grubuna kıyasla Sham gruplarında anlamlı bir fark görülmezken ($p>0,05$), Torsiyon 24 saat grubundan Torsiyon 14 gün grubuna gidildikçe CD 68 immünreaktivitesinde artış tespit edildi. Torsiyon 14 gün grubunda ipsilateral testislerde CD 68 immünreaktivitesi açısından fark Kontrol grubuna kıyasla anlamlıydı ($p<0,05$). Aynı taraf testis dokularında CD 163 immünreaktivitesini değerlendirdiğimizde ise; Kontrol ile Sham grupları arasında önemli bir fark görülmezken ($p>0,05$), Torsiyon 7 gün grubunda belirgin artış görüldü ($p<0,05$). Torsiyon 4 saat, Torsiyon 24 saat ve Torsiyon 14 gün gruplarında ise CD 163 immünreaktiviteleri benzerdi.

İmmünohistokimyasal boyamaların kontralateral (sağ) testis dokularında değerlendirilmesi sonucu; CD 68 immünreaktivitesi Kontrole kıyasla Sham gruplarında değişmezken, Torsiyon 4 saat grubundan Torsiyon 14 gün grubuna gidildikçe artış gösterip Torsiyon 14 gün grubunda en yüksek histoskora ulaştı. Aynı taraf testis dokularını CD 163 immünreaktivitesi açısından değerlendirdiğimizde ise; Kontrol grubu ile Sham grupları benzerdi ($p>0,05$). Torsiyon 7 gün grubunda ise Kontrol grubuna ve Torsiyon 4 saat, Torsiyon 24 saat ve Torsiyon 14 gün gruplarına göre CD 163 immünreaktivitesinde anlamlı artış görüldü ($p<0,05$).

Tablo 12. CD 68 ve CD 163 İmmünreaktiviteleri

	İpsilateral (Sol)		Kontralateral (Sağ)	
	CD 68	CD 163	CD 68	CD 163
Kontrol	0,080±0,024 ⁱ	0,170±0,036	0,060±0,026	0,190±,069
Sham 4 saat	0,060±0,022 ⁱ	0,120±0,024 ^h	0,050±0,016 ⁱ	0,120±,038 ^h
Sham 24 saat	0,070±0,021 ⁱ	0,160±0,034 ^h	0,070±0,02 ⁱ	0,130±,033 ^h
Sham 7 gün	0,060±0,026 ⁱ	0,140±0,034 ^h	0,080±0,029 ⁱ	0,090±,027 ^h
Sham 14 gün	0,050±0,016 ⁱ	0,090±0,027 ^h	0,060±0,022 ⁱ	0,110±,027 ^h
Torsiyon 4 saat	0,190±0,037	0,190±0,037	0,180±0,038	0,130±,033 ^h
Torsiyon 24 saat	0,110±0,030	0,140±0,026	0,220±0,041	0,250±,045 ^h
Torsiyon 7 gün	0,160±0,030	0,250±0,026 ^e	0,270±0,053	0,620±0,041 ^a
Torsiyon 14 gün	0,260±0,049	0,190±0,031	0,320±0,049 ^a	0,270±0,036 ^d
P Değeri	0,001	0,000	0,000	0,000

Değerler ortalama ± standart hata olarak sunulmuştur. ^a: Kontrol grubuna kıyasla; ^b: Sham 4 saat grubuna kıyasla; ^c:Sham 24 saat grubuna kıyasla; ^d:Sham 7 gün grubuna kıyasla; ^e: Sham 14 gün; ^f: Torsiyon 4 saat grubuna kıyasla; ^g:Torsiyon 24 saat grubuna; ^h:Torsiyon 7 gün grubuna kıyasla; ⁱ:Torsiyon 14 gün grubuna kıyasla p<0.05.

3.4. Rölatif Üreme Organ Ağırlıkları

Deney sonunda tüm gruplardaki sıçanların sağ ve sol testis, sağ ve sol epididimis, ventral prostat ve seminal vezikül rölatif ağırlıkları hesaplandı. Kontralateral (sağ) testis ağırlıkları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi (p>0,05). İpsilateral (sol) testis ağırlıkları karşılaştırdığında Kontrol grubu ile Sham grupları arasında anlamlı bir fark görülmezken (p>0,05), Torsiyon 7 gün ve Torsiyon 14 gün gruplarında Kontrol grubuna kıyasla rölatif testis ağırlığı açısından anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi (p<0,05).

Deney gruplarına ait rölatif seminal vezikül, prostat bezi ve sağ epididim ağırlıkları değerlendirildiğinde gruplar arasındaki fark önemsizdi (p>0,05). Sol epididim ağırlıklarına bakıldığında Kontrol grubu ile Sham grupları arasında fark görülmedi (p>0,05). Torsiyon 14 gün grubun ile Kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olduğu saptandı (p<0,05) (Tablo 13).

Tablo 13: Rölatif organ ağırlıkları (gr)

	Sağ testis	Sol testis	Sol epididimis	Sağ epididimis	Prostat bezi	Seminal vezikül
Kontrol	0,404±0,017	0,398±0,017 ^{a,h}	0,150±0,006 ^c	0,154±0,007	0,102±0,003	0,350±0,030
Sham 4 Saat	0,380±0,027	0,372±0,026 ^c	0,142±0,004 ^c	0,144±0,005	0,102±0,003	0,356±0,016
Sham 24 Saat	0,374±0,018	0,366±0,013 ^c	0,144±0,004 ^c	0,140±0,003	0,100±0,004	0,322±0,007
Sham 7 Gün	0,376±0,012	0,368±0,013 ^c	0,142±0,005 ^c	0,146±0,008	0,108±0,003	0,354±0,015
Sham 14 Gün	0,346±0,007	0,350±0,008 ^c	0,146±0,002 ^c	0,146±0,011	0,102±0,005	0,372±0,009
Torsiyon 4 Saat	0,358±0,009	0,366±0,018 ^c	0,148±0,002 ^c	0,134±0,008	0,106±0,005	0,370±0,015
Torsiyon 24 Saat	0,368±0,008	0,360±0,015 ^c	0,156±0,012	0,146±0,004	0,102±0,004	0,402±0,016
Torsiyon 7 Gün	0,402±0,011	0,288±0,012 ^c	0,170±0,116	0,140±0,044	0,112±0,003	0,378±0,011
Torsiyon 14 Gün	0,392±0,014	0,182±0,014	0,100±0,087	0,136±0,002	0,104±0,002	0,354±0,020
p Değeri	0,165	0,000	0,022	0,554	0,667	0,069

Değerler ortalama ± standart hata olarak sunulmuştur. ^a: Kontrol grubuna kıyasla; ^b: Sham 4 saat grubuna kıyasla; ^c: Sham 24 saat grubuna kıyasla; ^d: Sham 7 gün grubuna kıyasla; ^e: Sham 14 gün; ^f: Torsiyon 4 saat grubuna kıyasla; ^g: Torsiyon 24 saat grubuna; ^h: Torsiyon 7 gün grubuna kıyasla; ⁱ: Torsiyon 14 günle kıyaslandığında p<0.05.

3.5. Sperm Analizi

Deney gruplarında sperm motilite değerlerinin istatistiksel analizi yapıldığında, Kontrol grubu ile Sham grupları arasında istatistiksel olarak fark yoktu (p>0,05). Ancak Kontrol grubuna kıyasla Torsiyon gruplarında motilitenin önemli ölçüde azaldığı görüldü (p<0,05). Torsiyon grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde ise Torsiyon 7 gün ve Torsiyon 14 gün gruplarında dikkate değer azalma göze çarpmaktaydı (p<0,05).

Gruplar arasında sperm yoğunluğu ve spermelerde anormal baş, anormal kuyruk ve toplam anormal sperm oranı açısından yapılan istatistiksel

karşılaştırmada anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Tüm gruplara ait sperm analizi sonuçları Tablo 14’da sunuldu.

Tablo 14. Sperm Morfolojik Analizi

	Motilite (%)	Yoğunluk (milyon/sağ kauda epididimis)	Anormal sperm oranı (%)		
			Baş	Kuyruk	Toplam
Kontrol	80,00±3,16	81,60±9,32	4,00±0,44	3,80±0,66	9,20±0,73
Sham 4 Saat	74,00±2,44	73,60±7,13	3,20±1,02	5,40±1,07	10,00±2,58
Sham 24 Saat	72,00±2,00	96,00±5,13	3,80±0,91	3,60±0,67	7,40±0,81
Sham 7 Gün	76,00±4,00	88,60±9,94	3,20±0,58	4,00±0,83	7,40±0,60
Sham 14 Gün	68,00±3,74	90,00±7,07	3,40±0,51	3,00±0,77	6,40±0,51
Torsiyon 4 Saat	46,00±5,09 ^a	76,20±7,44	4,20±0,80	5,80±0,86	10,00±0,54
Torsiyon 24 Saat	46,00±5,09 ^a	90,40±4,62	5,20±1,06	3,80±0,66	11,20±1,98
Torsiyon 7 Gün	2,00±2,00 ^{a,b,c,d,e,f,g}	64,80±8,08	6,40±0,92	5,20±0,86	9,60±1,47
Torsiyon 14 Gün	2,00±2,00 ^{a,b,c,d,e,f,g}	70,80±9,47	5,00±0,70	3,80±0,66	9,40±1,32
p Değeri	0.000	0.144	0.221	0.217	0.115

Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak sunulmuştur. ^a: Kontrol grubuna kıyasla; ^b: Sham 4 saat grubuna kıyasla; ^c: Sham 24 saat grubuna kıyasla; ^d: Sham 7 gün grubuna kıyasla; ^e: Sham 14 gün; ^f: Torsiyon 4 saat grubuna kıyasla; ^g: Torsiyon 24 saat grubuna; ^h: Torsiyon 7 gün grubuna kıyasla; ⁱ: Torsiyon 14 gün grubuna kıyasla $p<0.05$.

3.6. Biyokimyasal Analizler

Testis torsiyonunun erkek hormon değerleri üzerine etkileri ELİSA analizleri ile belirlendi. Yapılan analizler sonucunda Testosteron değerinin Kontrol grubu ile kıyaslandığında Sham ve Torsiyon gruplarında anlamlı düşüş gösterdiği görüldü ($p<0,05$). Ancak Torsiyon grupları Testosteron düzeyleri açısından birbirine benzerdi ($p>0,05$). FSH değeri Kontrol grubu ile Sham grupları arasında anlamlı bir fark göstermezken ($p>0,05$); Kontrol grubuna kıyasla

Torsiyon 24 saat, Torsiyon 7 gün ve Torsiyon 14 gün gruplarında FSH düzeylerinin düştüğü belirlendi ($p<0,05$). Bununla birlikte tüm gruplarda LH düzeylerinin etkilendiği, özellikle Torsiyon gruplarına ait LH düzeylerinin Kontrol grubuna kıyasla anlamlı azaldığı tespit edildi ($p<0,05$) (Tablo 15).

Tablo 15. Testis Torsiyonunun serum FSH, LH ve Testosteron düzeylerine etkisi

	FSH	LH	Testosteron
Kontrol	8,283±0,219	7,346±0,167	483,900±9,651
Sham 4 saat	8,282±0,391	5,997±0,308	390,320±22,485 ^a
Sham 24 saat	8,701±0,577	6,147±0,263	365,520±5,646 ^a
Sham 7 gün	7,888±0,347	6,325±0,399	354,760±8,053 ^a
Sham 14 gün	7,638±0,651	6,323±0,111	374,680±4,135 ^a
Torsiyon 4 saat	7,089±0,112	5,993±0,131 ^a	373,600±3,062 ^a
Torsiyon 24 saat	6,575±0,191 ^{a,b,c}	5,746±0,174 ^a	367,640±6,081 ^a
Torsiyon 7 gün	6,491±0,067 ^{a,b,c}	5,666±0,260 ^a	370,640±3,162 ^a
Torsiyon 14 gün	6,602±0,204 ^{a,b,c}	5,416±0,168 ^a	377,480±4,005 ^a
p Değeri	0,000	0,006	0,000

Değerler ortalama ± standart hata olarak sunulmuştur. ^a: Kontrol grubuna kıyasla; ^b: Sham 4 saat grubuna kıyasla; ^c:Sham 24 saat grubuna kıyasla; ^d:Sham 7 gün grubuna kıyasla; ^e: Sham 14 gün; ^f: Torsiyon 4 saat grubuna kıyasla; ^g:Torsiyon 24 saat grubuna; ^h:Torsiyon 7 gün grubuna kıyasla; ⁱ:Torsiyon 14 gün grubuna kıyasla $p<0.05$.

4. TARTIŞMA

Erkek faktörlü infertilite tüm infertilite vakalarının yaklaşık yarısını oluşturmaktadır. Bu faktörlerin reversible olanlarından biri de testis torsiyonudur (186). Tıbbi ve ürolojik bir acil durum olan ve testisin kalıcı iskemik hasarına yol açabilen testis torsiyonu ilk olarak Hunter tarafından tanımlanmıştır (187, 188). Testis torsiyonunun yenidoğan ve adolesanlarda görülme sıklığı oldukça yüksektir (189). Bunun yanı sıra; dahiliyeci, pediatrist, acil tıp uzmanları, cerrahlar, daha sıklıkla ürologlar gibi hemen hemen tüm hekimlerin karşılaştığı veya karşılaşılabileceği, testis kaybını önlemek için hızlı tanı ve tedavi gerektiren acil vakalardandır (190). Testis torsiyonunun en endişe verici ve genellikle ihmal edilen sonuçlarından biri, subfertiliteye veya infertiliteye yol açabilmesidir (191). İlk 6 saat içerisindeki müdahale testis torsiyonunun prognozu açısından çok önemlidir (192). Vakaların çoğunda cerrahi müdahale sonrası fertilite korunmaktadır. Ancak hastanın kliniğe geç başvurusu veya yanlış tanı alması gibi bazı durumlarda tıbbi müdahalenin geciktiği bilinmektedir. Bu hastalar, hatta bazen erken dönemde cerrahi detorsiyon uygulanan hastalar bile ileride infertilite ya da subfertiliteyle karşı karşıya kalabilirler (193).

Klinik ve deneysel raporlar testis torsiyon hasarının torsiyonun hem süresine hem de derecesine bağlı olarak değiştiğini göstermektedir (194). Torsiyon sonrası testiküler hasarın değerlendirilmesinde; testis boyutu, testis ağırlığı, testis histolojisi (195), semen analizleri (196), ve doğurganlık oranları (197) gibi genel parametreler yaygın olarak kullanılmaktadır.

Deneysel testis torsiyon modelleri, torsiyonun derecesi ve süresi ile kan akışı arasındaki ilişkiyi hem ipsilateral hem de kontralateral testislerde ortaya çıkan hasarı değerlendirmek için kullanılan oldukça değerli çalışmalardır. Deneysel testis torsiyonu modeli oluşturulan sıçanlarda, testis kan akımını durdurmak için bilateral 720° rotasyonun yeterli olduğu ve detorsiyon sonrası kan akışının tekrar eski haline dönebildiği gösterilmiştir (198).

Testis torsiyonu vakalarının çoğunluğunu, spermatik kordun sol testiste sağ testise göre daha uzun olmasından dolayı sol testis torsiyonu oluşturmaktadır (199). Testis torsiyonu sonucunda meydana gelen histopatolojik hasar, farklı derece ve sürelerde torsiyon ve farklı reperfüzyon zamanı uygulanması ile birçok çalışmada gösterilmiştir (200-204). Yapılan çalışmalarda sıçanlarda minimum 1 saatlik torsiyon sonrası testiküler hasar oluşumunun başladığı ve torsiyon kaynaklı testiküler hasarın izlenmesi için yaklaşık 4 saatlik torsiyon süresinin yeterli olduğu saptanmıştır (200, 201). 720° ve 4 saatten daha uzun süren testis torsiyonunda testiküler hasar geri dönüşümsüz bir hale gelmekte ve fokal infarktüs alanları oluşmaktadır (181, 203). Bu bilgiler göz önünde bulundurularak çalışmamızda, torsiyon/detorsiyon uygulanması sonrası ipsilateral ve kontralateral sıçan testislerinde M1/M2 makrofaj polarizasyonunu belirlemek amacıyla 720° ve 4 saat sol testis torsiyonu modeli tercih edilmiştir.

Bozulan kan akımıyla ilişkili olarak testis torsiyonu sonrasında, dokuda gözlenen değişikliklerin ilk yarım saatten itibaren ortaya çıkmaya başladığını bildiren diğer bir deneysel çalışmada, 30 dakika 720°'lik sol testis torsiyon modeli uygulanmıştır. Reperfüzyondan bir saat sonra sıçan testis dokusunda seminifer tübül germinal epitelinde düzensizlikler gözlemlendi; 24 saat sonra seminifer tübüllerdeki dejenerasyonun giderek arttığı; 48. saatten sonra tübül lümenine dökülmüş immatür hücrelerin, hemoraji ve konjesyonun meydana geldiği bildirilmiştir. Yedi gün sonra ise tübül germinal epitelinde çok çekirdekli dev hücrelerin gözlemlendi, dokudaki histopatolojik bulguların şiddet ve yaygınlığının en yüksek seviyede olduğu rapor edilmiştir (205). Bir başka çalışmada 5 saatlik iskemi sonrası ipsilateral testislerde kontralaterale kıyasla daha yaygın olmak üzere testis dokusunda fokal hemoraji, konjesyon, interstisyel ödem, metafaz arresti ve germinal epitelde ayrılmalar tespit edilmiştir (204).

Çalışmamızda da torsiyon 4 saat ve 24 saat gruplarının kontralateral testis dokularında minimal ödem, konjesyon, germinal epitelde ayrılmalar gözlemlendi. Ancak, ipsilateral testislerde bu histopatolojik bulguların literatürle uyumlu olarak kontralateral testislere kıyasla çok daha şiddetli olduğu, yine bu tarafta tübül lümenine dökülen immatür germ hücrelerinin ortaya çıkmaya başladığı izlendi.

Önceki çalışmalarda detorsiyon sonrasında süre arttıkça testis dokusunda meydana gelen patolojik olayların da artarak devam ettiği gösterilmiştir (205, 206). Bizim çalışmamızda da özellikle ipsilateral testislerde Torsiyon 7 gün ve Torsiyon 14 gün gruplarında seminifer tübül hasarının, çok çekirdekli dev hücre sayısının, germ hücrelerindeki metafaz arrestinin artması bu çalışmaların sonuçlarıyla uyum içerisinde. Üstelik Torsiyon 14 gün grubunun ipsilateral testislerinde izlenen nekrotik tübüller de patolojik sürecin ilerlediği görüşünü desteklemektedir. Metafaz arresti en sık görülen mayotik arrest olarak tanımlanır. Testis üzerine olumsuz etkilerin mevcudiyetinde spermatositler, sıklıkla ikinci mayoz bölünmenin metafaz evresinde dejenere olurlar (207).

Seminifer tübül çapı ve germinal epitel kalınlığı testis dokusundaki morfolojik parametrelerden olup, çeşitli testiküler hasar durumlarında belirteç olarak kullanılmaktadır (208). Azalan seminifer tübül çapı ve germinal epitel kalınlıkları çoğunlukla spermatogenik seri hücrelerindeki dejenerasyon ile ilişkilendirilmiştir. Shokoohi M. ve ark. (2018)'nın yaptığı bir çalışmada 4 saatlik testis torsiyonunun ardından detorsiyon sonrası 14. gün sonunda ipsilateral testislerde seminifer tübül çapında ve germinal epitel kalınlığında belirgin azalma görülmüştür (209). Bir diğer çalışmada ise torsiyon/detorsiyon işleminden 2 saat sonra ipsilateral testiste seminifer tübül çapları ve germinal epitel kalınlıklarının ancak minimal azalma gösterdiği bildirilmiştir (210). Torsiyon/detorsiyondan sonra geçen 2 saatlik sürede azalmaya başlayan bu morfolojik parametrelerin 14. günde şiddetli azalma göstermesi iskemik testis hasarının ciddiyetinin torsiyonun süresine ve derecesine bağlı olduğu bilgisiyle uyumludur (211).

Çalışmamızda da ipsilateral testislerde, özellikle Torsiyon 14 gün grubunda anlamlı azalan seminifer tübül çapları ve germinal epitel kalınlıkları literatürdeki raporları destekler niteliktedir. Kontralateral testislerde ise her iki parametre açısından dikkate değer bir değişim izlenmemesi, bu taraf testislerdeki histopatolojik değişikliklerin de ipsilateral testislere oranla oldukça zayıf olmasıyla açıklanabilir.

Testis dokusundaki histolojik hasarın boyutunu gösteren bir skorlama metodu olan Cosentino skorlaması ile spermatogenezisi değerlendiren Johnsen skorlaması testiküler torsiyon çalışmalarında özellikle incelenen parametrelerdir.

Dejban ve ark. larının yaptıkları 7 günlük bir çalışmada torsiyon gruplarında hem ipsilateral hem de kontralateral testislerde Cosentino skorlarının kontrole kıyasla arttığı, Jonhnsen skorunda ise azalma olduğu belirlenmiştir (212). Bir başka çalışmada torsiyon sonrası 14. günde Johnsen skorunun torsiyon grubunda dramatik bir şekilde azaldığı rapor edilmiştir (209). Yine diğer bir çalışmada 4 saatlik torsiyon sonrası 24. saatte ipsilateral testiste daha fazla olmak üzere her iki tarafta Johnsen skorlarında azalma bildirilmiştir (213). Bizim çalışmamızda da Cosentino skorları özellikle ipsilateral testislerde torsiyon 7 gün ve torsiyon 14 gün gruplarında belirgin şekilde artış gösterdi. Aynı şekilde Johnsen skorları da her iki testiste de torsiyon gruplarında giderek azaldı. Bu bulgularımız literatür ile uyumlu olup, skorlardaki bu değişim histopatolojik bulgularımızı da desteklemektedir.

Bilateral testis torsiyonunun değerlendirildiği uzun süreli bir çalışmada torsiyon sonrası sperm parametrelerinin bozulduğu dahası en çok etkilenen parametrenin motilite olduğu bildirilmiştir (78). Ancak torsiyonun sperm parametreleri üzerine etkilerinin değerlendirildiği kapsamlı çalışma sayısı sınırlı olduğundan torsiyon sonrası erken dönemde yapılan semen analizlerinde değişmeyen parametrelerin varlığı testiküler torsiyonun fertilité üzerindeki etkisini objektif bir şekilde yansıtamamaktadır (25). Bizim çalışmamızda da sperm motilitesinin torsiyon gruplarında 4 saatten 14 güne doğru giderek azaldığı bulunmuştur. Ancak anormal sperm oranı ve sperm yoğunluğu açısından gruplar arası önemli bir fark bulunamamıştır. Bu durum da torsiyon/detorsiyon sonrası en çok 14 gün sonra yapılan sperm analizinin kısıtlayıcılığı ile yorumlanabilir.

Testiküler torsiyon sonrası hasarın değerlendirilmesinde kullanılan parametrelerden biri olan rölatif testis ağırlığında yalnızca ipsilateral testiste azalma olduğuna dair raporlar mevcuttur (214). Bizim çalışmamızda da bu verilerle uyumlu biçimde yalnızca ipsilateral testis ağırlığında kontrole kıyasla torsiyon gruplarında azalma tespit edilmiştir.

Testis torsiyonu, testiküler hücre membran harabiyetine neden olur. Membran hasarı sonrasında hücreye kalsiyum girişi artar (215). Kalsiyum, hücre içi ve hücre dışı sinyal yollarında görev alan sekonder habercilerden biridir (216). Hücre içerisinde artan kalsiyum iyonları apoptozisi indükler (217). İskemi

reperfüzyon hasarı sonrası birçok organda apoptozisin arttığına yönelik raporlar mevcuttur. Bir iskemi reperfüzyon modeli olan testis torsiyonunda da özellikle ipsilateral testiste apoptotik hücre sayısının arttığı birçok çalışmada gösterilmiştir (218, 219). Kontralateral testiste ise apoptotik hücre sayısının arttığını bildiren çalışmaların yanı sıra apoptozis açısından önemli bir artış olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (220-222). Literatüre uygun olarak çalışmamızda kontralateral testislerde apoptotik hücre sayısı açısından anlamlı bir fark tespit edilemedi, ipsilateral testislerde ise Torsiyon 24 saat ve Torsiyon 7 gün gruplarında apoptozisin önemli ölçüde arttığı belirlendi. Bu durum detorsiyon sonrası bekleme süresinin uzamasıyla şiddetlenen histopatolojik bulgularımızla uyumludur. Öte yandan Torsiyon 14 gün grubunda ipsilateral testislerde artan nekrotik tübüller, azalan apoptotik indeksle ilişkilendirilebilir.

Cho ve ark. (2010)'nın yaptıkları bir çalışmada hem sham hem de torsiyon gruplarında plazma LH konsantrasyonunda düşüş gözlemlendiğini ve bu hormonun azalmasına stres tarafından baskılanmış hipotalamus-hipofiz-gonadal aksının neden olabileceğini bildirilmişlerdir. Yine aynı çalışmada LH azalmasına bağlı olarak serum testosteron düzeylerinin de düştüğü gösterilmiştir. Öte yandan spermatogenezisin belirteci olan FSH düzeyleri değerlendirilmiş ve torsiyon gruplarında minimal azalma rapor edilmiştir (223). Çalışmamızda da torsiyon gruplarında kontrole kıyasla serum FSH, LH ve testosteron düzeylerinde azalma tespit edilmiştir ve bu durum literatürdeki yorumu destekler niteliktedir.

Makrofajlar, doğuştan gelen bağışıklık tepkilerinin aktivasyonunda ve organ homeostazının sürdürülmesinde dokulara özgü önemli hücrelerdir. Seminifer tübüller arasındaki interstisyel alanlarda bulunan makrofajların, testis immün ayrıcalığını sürdürmede rol oynadıkları düşünülmektedir (224). Testisteki yerleşik tip makrofajların büyük popülasyonu, bu özelleşmiş immünolojik ortama aracılık etmektedirler. Sıçanlarda yapılan çeşitli çalışmalar, testis makrofajlarının sitotoksik ve fagositik kapasitelerini koruduğunu, ancak proinflamatuvar işlevlerini büyük ölçüde azalttığını ve hatta immünosupresif aktivite sergilediğini göstermiştir. Testis makrofaj popülasyonunun fenotipini kontrol eden lokal mekanizmalar ne yazık ki ayrıntılı olarak bilinmemektedir (126).

Makrofaj polarizasyonu, makrofajların belirli bir zaman ve noktada nasıl aktive edildiğini belirtir. Makrofaj polarizasyonu sabit bir durum değildir. Makrofajlar plastisite gösterirler ve örneğin hasarlı doku ortamından gelen çeşitli sinyallerden etkilenerek farklı tepkiler verebilirler. Yara iyileşmesi ve doku onarımında makrofajların fonksiyonel plastisitesi bu duruma bir örnek olarak gösterilebilir (111, 225). Yapılan araştırmalarda makrofajların M1/M2 polarizasyonunun dinamik ve değişken bir süreç olduğu, polarize makrofajların fenotipinin fizyolojik ve patolojik koşullar altında tersine dönebileceği gösterilmiştir. Makrofajların işlevlerini, IFN- γ , TGF- β , IL-4 ve IL-10 gibi sitokinlerin etkisi ile klasik M1 veya alternatif M2 makrofajlara dönüşerek değiştirebilmekte olduğu bilinen bir gerçektir (109, 110, 117, 121, 226).

M1 makrofaj belirteci olan CD 68 çöpçü reseptör ailesinin bir üyesi olup, monosit ve makrofajların hücre yüzey molekülüdür (227, 228). CD163 patolojik olaylarda artan hemoglobin çöpçü reseptörü ve M2 makrofaj belirtecidir. CD163 pozitif makrofajlar, hem inflamatuvar sitokinlerin üretimi hem de fagositoz ile ilişkilidir (229, 230). Sıçan testiküler makrofaj popülasyonu, fare makrofaj popülasyonuna oranla fenotipik olarak daha az karakterize edilmiştir. Sıçanlarda bu karakterizasyon esas olarak sınırlı sayıda immünohistokimyasal çalışmalarla, CD68 ve CD163 belirteçlerinin ortaya konulması sonucunda gerçekleşmiştir (231, 232). Sıçanlarda olduğu gibi, insan testiküler makrofajları da CD 68 ve CD 163 makrofaj markerleri ile immün boyanarak tanımlanmıştır. Ancak kemirgenlere kıyasla insan TM'lerinin, daha yüksek seviyelerde M2 makrofaj belirteci CD163 ile karakterize edildiği bildirilmiştir (233). Testisin yerleşik makrofajlarının çoğu M2 makrofajları olup, testislerde immün düzenleyici ve immünotolerant M2 fenotipine doğru bir makrofaj polarizasyonu kategorize edilmektedir (133, 224). Biz de bu çalışmada kontrol ve sham gruplarına ait sıçan testis dokularında interstisyel alanlarda M2 makrofaj belirteci olan CD163 pozitif makrofajların M1 makrofaj belirteci olan CD 68 pozitif makrofajlara oranla daha fazla sayıda bulunduğunu belirledik. Ancak Torsiyon-detorsiyon yapılan gruplarda M1/M2 makrofaj polarizasyonunun dinamiklerinde değişiklikler olduğunu tespit ettik. Bu durum, polarize makrofajların IFN- γ aracılığıyla M1 hücrelerine veya IL-4 aracılığıyla M2 hücrelerine farklılaşabileceğini gösteren hücre kültürü deneyleri

ve fenotiplerinin fizyolojik ve patolojik çeşitli durumlarda değişebileceğini bildiren diğer çalışmalarla uyum içerisinde (115, 226).

Makrofajlar, farklı işlevlerini gerçekleştirilmek amacıyla klasik ve alternatif yollar olmak üzere iki ayrı yoldan etkindirler. Klasik yoldan aktive olan ve M1 olarak adlandırılan makrofajlar inflamasyonu tetiklerler. M1 makrofajların yüksek oranda fagositoz yaptığı ve doku hasarına yol açtığı bilinmektedir (234). Çalışmamızda, ilginç bir şekilde torsiyon-detorsiyon yapılan gruplarda kontralateral testis dokusunda CD68 ve CD163 immün reaktivitesinin ipsilateral testis dokusuna oranla daha yüksek olduğu tespit edildi. İpsilateral testis dokularında CD 68 immünreaktivitesi Torsiyon 14 grubunda Kontrole kıyasla anlamlı olarak artmışken, kontralateral testis dokusunda Torsiyon 4 saat grubundan Torsiyon 14 gün grubuna gidildikçe artış göstererek Torsiyon 14 gün grubunda ise en yüksek değere ulaştı. Bu durum, tek taraflı testis torsiyon-detorsiyonunda kontralateral testis dokusunda da doku tahribatı yapabilme potansiyeline sahip M1 makrofajların artış gösterdiğini ortaya koyması açısından önemlidir. CD 163 immünreaktivitesini değerlendirdiğimizde ise, kontralateral testis dokusunda daha belirgin olmakla birlikte hem ipsilateral ve hem de kontralateral testis dokularında; Torsiyon 7 gün grubunda belirgin artış görüldü.

Alternatif yoldan IL-4 ve IL-13 gibi sitokinlerin uyarısı ile etkinleşen M2 makrofajları doku onarımı ve inflamasyonun denetlenmesinde daha önemli hücrelerdir ve doku tamirini artırarak daha çok fibroziste rol oynarlar (82, 107, 234) Bilindiği gibi doku hasarından sonra makrofajların ürettiği IL-4, M2 makrofajların indüksiyonunu ve aktivasyonunu sağlar (98). Çalışmamızda Torsiyon 7. günde özellikle kontralateral testiste daha belirgin olmakla birlikte, hem ipsilateral ve hem de kontralateral testis dokularında belirlenen yüksek CD163 immünreaktivitesi, hem ipsilateral ve hem de kontralateral testis dokusunu koruma amaçlı doku onarıcı M2 tipi makrofajların arttığı bir korunma mekanizması da olabilir. M1 tipi makrofajlarda NO üretilirken, M2 tipi makrofajların ornitin sentezi yaptığı bilinmektedir. NO “Savaş” veya Ornitin “Onar” aktivitelerinden öncelikle sorumlu olan moleküller, hem arjininden, hem de iNOS ve arginaz enzimatik yollarından oluşur. Arjinin iNOS tarafından nitrik okside dönüştürülür ve M1 makrofajın öldürme fonksiyonunda etkindir.

İnflamasyonda M1/M2 makrofaj polarizasyonu oranı NO ya da ornitin üretiminden hangisinin baskın olacağı ile belirlenmektedir ve böylelikle makrofaj plastisitesi gerçekleşmektedir. M2 makrofajlar NO üreten M1 makrofajlara dönüşebilmektedir fakat bu tekrar M2 makrofajlara dönüşebilecekleri anlamına da gelmemektedir (234). Ancak çalışmamızda M1/M2 makrofaj polarizasyonunda biri diğerine kayan makrofaj dönüşümünden çok CD68 ve CD163 pozitif makrofajların testis dokularında genel olarak sayıca artmış olduklarını belirledik.

Literatürde tek taraflı testis torsiyon-detorsiyonu ile ilgili çok sayıda deneysel çalışma bulunmasına rağmen makrofaj polarizasyonunun belirlenmesi ve kontralateral testis hasarını açıklayabilmek amacıyla interstisyel alanda yüksek oranda doku tahribatına neden olma potansiyeline sahip M1 makrofajlarda bir artış olup olmadığının araştırılmasına dair herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızda Torsiyon 14 gün grubunda, hem ipsilateral ve hem de kontralateral CD68 pozitif M1 makrofajların sayıca diğer günlere oranla daha fazla arttığı belirlenmiştir. Ancak 14. gündeki bu artışta, yoğun olan doku ve hücre hasarına ait artıkların fagosite edilerek temizlenmesi mekanizması da etkili olabilir.

Yapılan birçok çalışmada, doku iskemi-reperfüzyon hasarının patogenezinde oksidatif stres üzerinde durulmaktadır, ancak bu hipotez tek başına serbest radikal temizleyicilerin neden kontralateral testis hasarını iyileştiremediğini de açıklayamamaktadır. Uzun süredir yoğun olarak araştırılmasına rağmen, günümüzde hala kontralateral testis hasarının gerçek mekanizması belirsizliğini korumaktadır. Bugüne kadar kontralateral testis hasarının; serbest oksijen radikallerinin bir etkisi olarak, immünolojik etioloji ile, kan akımındaki değişiklikler sonucunda, testis detorsiyonundan sonra kontralateral testiste enzim seviyelerinde meydana gelen değişiklikler aracılığıyla gerçekleştiğini öngören çeşitli çalışmalar yapılmıştır (235) (236, 237). Hatta tek taraflı testis torsiyonu uygulanan sıçanların kontralateral testis dokusunda hiçbir hasar oluşmadığını bildiren çalışmaların bile mevcut olması bu konudaki karmaşayı arttırmaktadır (238). Reperfüzyon sırasında ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin ise dokulara iskemi hasarından daha çok zarar verdiği ileri sürülmüştür (191). Reperfüze dokunun sadece testis hücrelerine karşı geçici bir

otoantikör üretimini tetiklemekle kalmayıp aynı zamanda ipsilateral kan-testis bariyerinin bütünlüğünün bozulmasına neden olarak anti-sperm antikör üretimi ve kontralateral hasara da neden olduğu öne süren araştırmacılar vardır. Bu araştırmacılar, reperfüze testisin, humoral yanıtı artırabileceği ve daha sonra fertilité üzerinde daha büyük olumsuz etki yaratabileceği üzerinde durmaktadırlar (192). Rodriguez ve ark. ise 720 derecelik tek taraflı spermatik kord torsiyonuna maruz kalan sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, humoral ve hücrel immün yanıtların testis hücrelerindeki hasara aracılık ettiğini ileri sürmüşlerdir (145).

M2 makrofajların dört alt grubundan biri olan ve IL-6 ve adenozin tarafından aktive edilen M2d makrofajların yüksek oranda VEGF (vasküler endotelial büyüme faktör), IL-10 ve iNOS eksprese ettiği bildirilmiştir (120, 121).

Çalışmamızda, Kontrol ve Sham gruplarıyla kıyaslandığında Torsiyon-detorsiyon gruplarına ait sağ testislerde daha belirgin olmak üzere sağ ve sol testis dokusu kesitlerinde yüksek endotelli venül benzeri kan damarlarının bulunduğu dikkat çekti. Özellikle kontralateral sağ testis dokusunda yüksek endotelli venül benzeri damarların yoğun olarak gözlenmesi bu damar yapılarının M2 makrofaj artışına paralel olarak artabilecek VEGF, VEGF etkisi ile damar endotelinde olması muhtemel değişiklikler ve hatta anjiyogenez ile ilişkili olabileceği ihtimalinin de ayrıntılı olarak gelecek çalışmalarda araştırılması gerekliliğini düşündürmektedir.

Mast hücreleri türlere bağlı olarak testisin farklı bölgelerine dağılmıştır; sıçanda daha çok tunika albugineanın altında ve kan damarlarının yakınında bulunurken, insan testislerinde ise interstisyumda ve peritübüler alanlarda lokalize oldukları bilinmektedir (239). Gaytan ve arkadaşları androjenlerin yenidoğan sıçan testisleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında kontrol grubu sıçan testislerinde MH'lerinin tunica albugineanın altında ve özellikle kan damarları çevresinde yerleşmiş olduklarını bildirmişlerdir (240). Aynı şekilde biz de çalışmamızda MH'lerinin tunica albugineanın altında ve özellikle kan damarları çevresinde yerleşmiş olduklarını gözlemledik ve torsiyon/detorsiyon sonrası bu alanlardaki hücre artışlarını belirledik. Gaytan ve arkadaşları yeni doğan

sıçanlarda östrojen uygulayarak yaptıkları bir diğer çalışmada ise mast hücre sayıları ile seminifer tübül epiteli etkilenmesi arasında bir korelasyon bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu mast hücre sayılarındaki artış, seminifer tübül hasarının bağ dokusu proliferasyonuna paralel olması nedeniyle, bağ dokusunun gelişimi ile de ilişkilendirilmiştir (241). Çalışmamızda torsiyon-detorsiyon gruplarında ipsilateral testislerde Kontrol grubuna kıyasla MH'lerinin sayısında belirgin bir artış tespit edilirken, kontralateral testislerde sadece Torsiyon 14 gün grubunda Mast hücre sayısında artış tespit edildi. Torsiyon-detorsiyon grupları kendi içinde değerlendirildiğinde ise Torsiyon 14 gün grubunda kontralateral sağ testiste MH sayılarının belirgin şekilde arttığı belirlendi. MH aktivasyonu ile birlikte sitokin salınımı ve doku homeostazisinden, dokunun yeniden biçimlenmesi (Remodeling)'e kadar geniş bir yelpaze içerisinde birçok olay gerçekleşebilmektedir (172, 174). Bu çalışmada ipsilateral torsiyon-detorsiyon gruplarında 4 saatte başlayan artış mast hücrelerinin erken dönemden itibaren aktive olduğunu ve sürece katıldığını göstermektedir. İpsilateral torsiyon 14 gün grubunda kontrole göre MH sayısının artışının yanısıra interstisyel alanlarda nekrotik ve seminifer tübüller arasında da MH'lerinin bulunduğu gözlemlendi. Torsiyon gruplarında MH dağılımındaki bu değişikliklerin Torsiyon-detorsiyon sonrasında harap olan ipsilateral testis dokusunun yeniden biçimlenmesine destek olması amacıyla gerçekleştirilebileceğini düşünmekteyiz.

Bu çalışmada, aynı zamanda immün ayrıcalıklı bölge olan testis dokusunda, torsiyon-detorsiyon sonrası M1/M2 makrofaj polarizasyonu dinamiklerinde değişiklikler olduğu belirlenmiştir. Torsiyon-detorsiyon gruplarında kontralateral testis dokusunda hasar oluşturabilme potansiyeli olan M1 makrofaj artışı gözlenmiştir. Ayrıca kontralateral testis dokusunda yüksek endotelli venül benzeri damarların yoğun olarak gözlenmiş olması da bu konuda halen süregelen belirsizlik ve tartışmalara farklı bir bakış açısı sunmaktadır. Sonuç olarak, bu çalışmadan elde edilen en önemli veri, torsiyon-detorsiyon sonrası kontralateral testislerde meydana gelen değişikliklerin açıklanmasında makrofaj, mast hücresi ve hatta lenfosit-damar endotel hücrelerinin de katıldığı immün hücrelerle ilişkili mekanizmaların ayrıntılı olarak araştırılması gerektiğidir.

KAYNAKLAR

1. Sadler TW. Langman's medical embryology: Lippincott Williams & Wilkins; 2018:256-83.
2. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. The Developing Human-E-Book: Clinically Oriented Embryology: Elsevier Health Sciences; 2018:243-80.
3. De Lathauwer L, De Moor B, Vandewalle J. A multilinear singular value decomposition. SIAM journal on Matrix Analysis and Applications. 2000;21(4):1253-78.
4. Basaria S. Reproductive aging in men. Endocrinol Metab Clin North Am. 2013;42(2):255-70.
5. Yıldırım M. Resimli sistematik anatomi: Nobel Tıp Kitabevleri; 2013:581-96.
6. Arıncı K. Anatomi 2. cilt: Dolaşım sistemi, periferik sinir sistemi, merkezi sinir sistemi, duyu organları: Güneş kitapevi; 2020:330-6.
7. Drake R, Vogl AW, Mitchell AW, Tibbitts R, Richardson P. Gray's Atlas of Anatomy E-Book: Elsevier Health Sciences; 2020:346-8.
8. Hansen JT. 4 edition Netter's Clinical Anatomy. Elsevier Inc.; 2019:36-8.
9. Mescher AL. Junqueira's basic histology: text and atlas: McGraw-Hill Education; 2018:439-59.
10. Eşrefoğlu M. Özel Histoloji. İstanbul Medikal Yayıncılık. 2016:335-53.
11. <https://www.histology.leeds.ac.uk/male/testis.php> 27.10.2020.
12. Gartner LP. Textbook of Histology E-Book: Elsevier Health Sciences; 2020:559-82.
13. <https://quizlet.com/126695990/male-repro-histology-flash-cards/>; 03.11.2020.

14. Islam R, Yoon H, Kim B-s, Bae H-s, Shin H-r, Kim W-J, et al. Blood-testis barrier integrity depends on Pin1 expression in Sertoli cells. *Scientific reports*. 2017;7(1):1-12.
15. Turek P. Male reproductive physiology. *Campbell-Walsh Urology*. 2012;1:591-615.
16. Heller CG, Clermont Y. Spermatogenesis in man: an estimate of its duration. *Science*. 1963;140(3563):184-6.
17. Clermont Y. The cycle of the seminiferous epithelium in man. *American Journal of Anatomy*. 1963;112(1):35-51.
18. Pawlina W, Ross MH. *Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology*: Lippincott Williams & Wilkins; 2018:791-819.
19. http://medcell.med.yale.edu/systems_cell_biology/male_reproductive_systemlab.php; 19.11.2020.
20. Kierszenbaum AL, Tres L. *Histology and Cell Biology: an introduction to pathology E-Book*: Elsevier Health Sciences; 2015:663-721.
21. Ahmed FA, Whelan J, Jequier AM, Cummins JM. Torsion-induced injury in rat testes does not affect mitochondrial respiration or the accumulation of mitochondrial mutations. *international journal of andrology*. 2000;23(6):347-56.
22. Regadera J, Nistal M, Paniagua R. Testis, epididymis, and spermatic cord in elderly men. Correlation of angiographic and histologic studies with systemic arteriosclerosis. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 1985;109(7):663-7.
23. Vasdev N, Chadwick D, Thomas D. The acute pediatric scrotum: presentation, differential diagnosis and management. *Current urology*. 2012;6(2):57-61.
24. <https://www.statpearls.com/>; 22.11.2020.

25. Jacobsen FM, Rudlang TM, Fode M, Østergren PB, Sønksen J, Ohl DA, et al. The impact of testicular torsion on testicular function. *The world journal of men's health*. 2020;38(3):298-307.
26. <https://abdominalkey.com/testicular-torsion-and-torsion-of-the-testicular-or-epididymal-appendage/>; 23.11.2020.
27. Naouar S, Braiek S, El Kamel R. Testicular torsion in undescended testis: A persistent challenge. *Asian Journal of Urology*. 2017;4(2):111-5.
28. Mellick LB, Sinex JE, Gibson RW, Mears K. A systematic review of testicle survival time after a torsion event. *Pediatric emergency care*. 2019;35(12):821-5.
29. Mellick LB, Mowery ML, Al-Dhahir MA. Cremasteric Reflex. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020;35(12):821-5.
30. Bandarkar AN, Blask AR. Testicular torsion with preserved flow: key sonographic features and value-added approach to diagnosis. *Pediatric radiology*. 2018;48(5):735-44.
31. Ciftci A, Şenocak M, Tanyel FC, Büyükpamukçu N. Clinical predictors for differential diagnosis of acute scrotum. *European Journal of Pediatric Surgery*. 2004;14(05):333-8.
32. Pogorelić Z, Mrklić I, Jurić I, Biočić M, Furlan D. Testicular torsion in the inguinal canal in children. *Journal of pediatric urology*. 2013;9(6):793-7.
33. Mathews John C, Kooner G, Mathew DE, Ahmed S, Kenny SE. Neonatal testicular torsion—a lost cause? *Acta paediatrica*. 2008;97(4):502-4.
34. Bordin G, Parolini F, Morandi A, Farris G, Leva E, Torricelli M. Intravaginal testicular torsion in newborns. To fix or not to fix the contralateral testis? *La Pediatria Medica e Chirurgica*. 2013; 35(5):225-7.
35. Williamson RC. Death in the scrotum: testicular torsion. *Mass Medical Soc*; 1977:296-338.

36. Akgür FM, Kiliç K, Aktuğ T, Olguner M. The effect of allopurinol pretreatment before detorting testicular torsion. *The Journal of urology*. 1994;151(6):1715-7.
37. Turner T, Brown K. Spermatoc cord torsion: loss of spermatogenesis despite return of blood flow. *Biology of reproduction*. 1993;49(2):401-7.
38. Turner TT, Bang HJ, Lysiak JL. The molecular pathology of experimental testicular torsion suggests adjunct therapy to surgical repair. *The Journal of urology*. 2004;172(6 Part 2):2574-8.
39. Lysiak JJ, Turner SD, Nguyen QAT, Singbartl K, Ley K, Turner TT. Essential role of neutrophils in germ cell-specific apoptosis following ischemia/reperfusion injury of the mouse testis. *Biology of reproduction*. 2001;65(3):718-25.
40. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacological reviews*. 2001;53(1):135-59.
41. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *The american journal of surgery*. 1991;161(4):488-503.
42. Üstün H, Akgül KT, Ayyıldız A, Yağmurdur H, Nuhoglu B, Karagüzel E, et al. Effect of phosphodiesterase 5 inhibitors on apoptosis and nitric oxide synthases in testis torsion: an experimental study. *Pediatric surgery international*. 2008;24(2):205-11.
43. Guidot D, McCord J, Wright R, Repine J. Absence of electron transport (Rho 0 state) restores growth of a manganese-superoxide dismutase-deficient *Saccharomyces cerevisiae* in hyperoxia. Evidence for electron transport as a major source of superoxide generation in vivo. *Journal of Biological Chemistry*. 1993;268(35):26699-703.
44. Jung JE, Kim GS, Chen H, Maier CM, Narasimhan P, Song YS, et al. Reperfusion and neurovascular dysfunction in stroke: from basic

- mechanisms to potential strategies for neuroprotection. *Molecular neurobiology*. 2010;41(2-3):172-9.
45. Zini A, O'Bryan MK, Magid MS, Schlegel PN. Immunohistochemical localization of endothelial nitric oxide synthase in human testis, epididymis, and vas deferens suggests a possible role for nitric oxide in spermatogenesis, sperm maturation, and programmed cell death. *Biology of reproduction*. 1996;55(5):935-41.
 46. Moncada S. The 1991 Ulf von Euler Lecture: The l-arginine: nitric oxide pathway. *Acta physiologica Scandinavica*. 1992;145(3):201-27.
 47. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron*. 1992;8(1):3-11.
 48. Doutheil J, Althausen S, Treiman M, Paschen W. Effect of nitric oxide on endoplasmic reticulum calcium homeostasis, protein synthesis and energy metabolism. *Cell calcium*. 2000;27(2):107-15.
 49. Gute DC, Ishida T, Yarimizu K, Korthius RJ. Inflammatory responses to ischemia, and reperfusion in skeletal muscle. *Molecular and cellular biochemistry*. 1998;179(1-2):169-87.
 50. Kostakis ID, Zavras N, Damaskos C, Sakellariou S, Korkolopoulou P, Misiakos EP, et al. Erythropoietin and sildenafil protect against ischemia/reperfusion injury following testicular torsion in adult rats. *Experimental and therapeutic medicine*. 2017;13(6):3341-7.
 51. Lysiak JJ, Nguyen QAT, Kirby JL, Turner TT. Ischemia-reperfusion of the murine testis stimulates the expression of proinflammatory cytokines and activation of c-jun N-terminal kinase in a pathway to E-selectin expression. *Biology of reproduction*. 2003;69(1):202-10.
 52. Lysiak JJ, Bang HJ, Nguyen QAT, Turner TT. Activation of the nuclear factor kappa B pathway following ischemia-reperfusion of the murine testis. *Journal of andrology*. 2005;26(1):129-35.
 53. RS WAJ. Biology of HIF-1alpha. *Cell Death Differ*. 2008;15:621627.

54. Palladino MA, Shah A, Tyson R, Horvath J, Dugan C, Karpodinis M. Myeloid cell leukemia-1 (Mcl-1) is a candidate target gene of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) in the testis. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2012;10(1):104-16.
55. Piret J-P, Mottet D, Raes M, Michiels C. Is HIF-1 α a pro-or an anti-apoptotic protein? *Biochemical pharmacology*. 2002;64(5-6):889-92.
56. Goldwasser B, Weissenberg R, Lunenfeld B, Nativ O, Many M. Semen quality and hormonal status of patients following testicular torsion. *Andrologia*. 1984;16(3):239-43.
57. Shiraishi K, Naito K, Yoshida K-i. Nitric oxide promotes germ cell necrosis in the delayed phase after experimental testicular torsion of rat. *Biology of reproduction*. 2001;65(2):514-21.
58. Harrison R, De Marval MM, Lewis-Jones D, Connolly R. Mechanism of damage to the contralateral testis in rats with an ischaemic testis. *The Lancet*. 1981;318(8249):723-5.
59. Choi H, Choo MS, Kim KM, Kim WH, Lee YS, Chung M-H. The alterations of cellular metabolism in the contralateral testis following spermatic cord torsion in rats. *The Journal of urology*. 1993;150(2):577-80.
60. Sarica K, K peli B, Budak M, Ko ar A, Kavuk u M, Durak  , et al. Influence of experimental spermatic cord torsion on the contralateral testis in rats. *Urologia internationalis*. 1997;58(4):208-12.
61. Puri P, Barton D, O'Donnell B. Prepubertal testicular torsion: subsequent fertility. *Journal of pediatric surgery*. 1985;20(6):598-601.
62. Andiran F, Okur D, Kilinc A, Gedikog lu G, Kilinc K, Tanyel F. Do experimentally induced ipsilateral testicular torsion, vas deferens obstruction, intra-abdominal testis or venous obstruction damage the contralateral testis through a common mechanism? *BJU international*. 2000;85(3):330-5.

63. Makgür F, Kiliç K, Tanyel EC, Büyükpamukcu N. Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. *Urology*. 1994;44(3):413-8.
64. Turner T. Acute experimental testicular torsion: no effect on the contralateral testis. *Journal of andrology*. 1985;6(1):65-72.
65. Baker LA, Turner TT. Leydig cell function after experimental testicular torsion despite loss of spermatogenesis. *Journal of andrology*. 1995;16(1):12-7.
66. Steinberger E, Tjioe D. Spermatogenesis in rat testes after experimental ischemia. *Fertility and sterility*. 1969;20(4):639-49.
67. Zhang X, Zhang J, Cai Z, Wang X, Lu W, Li H. Effect of unilateral testicular torsion at different ages on male fertility. *Journal of International Medical Research*. 2020;48(4):1-8.
68. Rabani R, Sadeghipour RH, Sepehri H, Hassanzadeh SA, Dehpour A. Effect of cannabinoids on testicular Ischemia-reperfusion injury in rat. 2006;44(6):365-70.
69. Friedman AA, Palmer LS, Maizels M, Bittman ME, Avarello JT. Pediatric acute scrotal pain: A guide to patient assessment and triage. *J Pediatr Urol*. 2016;12(2):72-5.
70. Fantasia J, Aidlen J, Lathrop W, Ellsworth P. Undescended Testes: A Clinical and Surgical Review. *Urol Nurs*. 2015;35(3):117-26.
71. Romeo C, Impellizzeri P, Arrigo T, Antonuccio P, Valenzise M, Mirabelli S, et al. Late hormonal function after testicular torsion. *Journal of pediatric surgery*. 2010;45(2):411-3.
72. Castañeda-Sánchez I, Tully B, Shipman M, Hoeft A, Hamby T, Palmer BW. Testicular torsion: a retrospective investigation of predictors of surgical outcomes and of remaining controversies. *Journal of Pediatric Urology*. 2017;13(5):516. e1-. e4.

73. Radmayr C, Dogan HS, Hoebeke P, Kocvara R, Nijman R, Silay S, et al. Management of undescended testes: European Association of Urology/European Society for Paediatric Urology Guidelines. *J Pediatr Urol.* 2016;12(6):335-43.
74. Osumah T, Jimbo M, Granberg C, Gargollo P. Frontiers in pediatric testicular torsion: an integrated review of prevailing trends and management outcomes. *Journal of pediatric urology.* 2018;14(5):394-401.
75. Monteilh C, Calixte R, Burjonrappa S. Controversies in the management of neonatal testicular torsion: A meta-analysis. *Journal of Pediatric Surgery.* 2019;54(4):815-9.
76. Velasquez J, Boniface MP, Mohseni M. Acute Scrotum Pain. *StatPearls [Internet].* 2020.
77. Smith GI. Cellular changes from graded testicular ischemia. *The Journal of Urology.* 1955;73(2):355-62.
78. Thomas W, Crane G, Cooper M, Lee G, Williamson R. Testicular exocrine malfunction after torsion. *The Lancet.* 1984;324(8416):1357-60.
79. Bartsch G, Frank S, Marberger H, Mikuz G. Testicular torsion: late results with special regard to fertility and endocrine function. *The Journal of urology.* 1980;124(3):375-8.
80. Howe AS, Vasudevan V, Kongnyuy M, Rychik K, Thomas LA, Matuskova M, et al. Degree of twisting and duration of symptoms are prognostic factors of testis salvage during episodes of testicular torsion. *Transl Androl Urol.* 2017;6(6):1159-66.
81. Virella G. *Medical immunology*: CRC Press; 2020:49-251.
82. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Basic Immunology E-Book: Functions and Disorders of the Immune System*: Elsevier Health Sciences; 2019:13-68.
83. Levinson WE. *Review of medical microbiology and immunology*: McGraw Hill Professional; 2020:145-6.

84. Anderson AO, Anderson N. Studies on the structure and permeability of the microvasculature in normal rat lymph nodes. *The American journal of pathology*. 1975;80(3):387-418.
85. US AD. Temel İmmünoloji ve Seroloji. Ankara: Hipokrat Kitabevi; 2016:57-84.
86. Brubaker SW, Bonham KS, Zanoni I, Kagan JC. Innate immune pattern recognition: a cell biological perspective. *Annual review of immunology*. 2015;33:257-90.
87. Lindberg MR. *Diagnostic Pathology: Normal Histology*: Elsevier; 2017:336-45.
88. Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nature Reviews Immunology*. 2003;3(4):331-41.
89. Brandtzaeg P, Pabst R. Let's go mucosal: communication on slippery ground. *Trends in immunology*. 2004;25(11):570-7.
90. Virella G. *Medical immunology*: CRC Press; 2019:141-58.
91. Wu M-Y, Lu J-H. Autophagy and macrophage functions: inflammatory response and phagocytosis. *Cells*. 2020;9(1):70-94.
92. Songu M, Katılmış H. Enfeksiyondan korunma ve immün sistem. *Journal of Medical Updates*. 2012;2(1):31-42.
93. Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nature reviews immunology*. 2005;5(12):953-64.
94. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nature reviews immunology*. 2003;3(1):23-35.
95. Gordon S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response. *Cell*. 2002;111(7):927-30.
96. Nagamatsu T, Schust DJ. The Immunomodulatory Roles of Macrophages at the Maternal—Fetal Interface. *Reproductive Sciences*. 2010;17(3):209-18.

97. Shynlova O, Nedd-Roderique T, Li Y, Dorogin A, Lye SJ. Myometrial immune cells contribute to term parturition, preterm labour and post-partum involution in mice. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2013;17(1):90-102.
98. Martinez FO, Sica A, Mantovani A, Locati M. Macrophage activation and polarization. *Front biosci*. 2008;13(1):453-61.
99. Hedger MP. The immunophysiology of male reproduction. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. 2015:805.
100. Liu Y, Liang Y, Wang S, Tarique I, Vistro WA, Zhang H, et al. Identification and characterization of telocytes in rat testis. *Aging (Albany NY)*. 2019;11(15):5757-68.
101. Marini M, Rosa I, Guasti D, Gacci M, Sgambati E, Ibba-Manneschi L, et al. Reappraising the microscopic anatomy of human testis: identification of telocyte networks in the peritubular and intertubular stromal space. *Scientific reports*. 2018;8(1):1-11.
102. Rosa I, Marini M, Sgambati E, Ibba-Manneschi L, Manetti M. Telocytes and lymphatic endothelial cells: Two immunophenotypically distinct and spatially close cell entities. *Acta Histochemica*. 2020;122(3):151530.
103. Fijak M, Pilatz A, Hedger MP, Nicolas N, Bhushan S, Michel V, et al. Infectious, inflammatory and 'autoimmune' male factor infertility: how do rodent models inform clinical practice? *Human reproduction update*. 2018;24(4):416-41.
104. Zhao S, Zhu W, Xue S, Han D. Testicular defense systems: immune privilege and innate immunity. *Cellular & molecular immunology*. 2014;11(5):428-37.
105. Blériot C, Chakarov S, Ginhoux F. Determinants of resident tissue macrophage identity and function. *Immunity*. 2020;52(6):957-70.
106. Korkmaz A. *Helicobacter Felis' in Makrofaj Polarizasyonu Üzerine Etkisi: Fen Bilimleri Enstitüsü*; 2016.

107. Yamate J, Izawa T, Kuwamura M. Histopathological analysis of rat hepatotoxicity based on macrophage functions: in particular, an analysis for thioacetamide-induced hepatic lesions. *Food Safety*. 2016;4(3):61-73.
108. Mills CD, Kincaid K, Alt JM, Heilman MJ, Hill AM. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *The Journal of immunology*. 2000;164(12):6166-73.
109. Saccani A, Schioppa T, Porta C, Biswas SK, Nebuloni M, Vago L, et al. p50 nuclear factor- κ B overexpression in tumor-associated macrophages inhibits M1 inflammatory responses and antitumor resistance. *Cancer research*. 2006;66(23):11432-40.
110. Guiducci C, Vicari AP, Sangaletti S, Trinchieri G, Colombo MP. Redirecting in vivo elicited tumor infiltrating macrophages and dendritic cells towards tumor rejection. *Cancer research*. 2005;65(8):3437-46.
111. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaeili SA, Mardani F, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *Journal of cellular physiology*. 2018;233(9):6425-40.
112. Murray PJ. Macrophage polarization. *Annual review of physiology*. 2017;79:541-66.
113. Lavin Y, Winter D, Blecher-Gonen R, David E, Keren-Shaul H, Merad M, et al. Tissue-resident macrophage enhancer landscapes are shaped by the local microenvironment. *Cell*. 2014;159(6):1312-26.
114. Hao NB, Lü MH, Fan YH, Cao YL, Zhang ZR, Yang SM. Macrophages in tumor microenvironments and the progression of tumors. *Clin Dev Immunol*. 2012;2012:948098.
115. Baeck C, Wei X, Bartneck M, Fech V, Heymann F, Gassler N, et al. Pharmacological inhibition of the chemokine C-C motif chemokine ligand 2 (monocyte chemoattractant protein 1) accelerates liver fibrosis regression by suppressing Ly-6C⁺ macrophage infiltration in mice. *Hepatology*. 2014;59(3):1060-72.

116. Martinez FO, Helming L, Gordon S. Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective. *Annual review of immunology*. 2009;27:451-83.
117. Martinez FO, Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000prime reports*. 2014;6:1-13.
118. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends in immunology*. 2004;25(12):677-86.
119. Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, Fisher EA, Gilroy DW, Goerdt S, et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*. 2014;41(1):14-20.
120. Ferrante CJ, Pinhal-Enfield G, Elson G, Cronstein BN, Hasko G, Outram S, et al. The adenosine-dependent angiogenic switch of macrophages to an M2-like phenotype is independent of interleukin-4 receptor alpha (IL-4R α) signaling. *Inflammation*. 2013;36(4):921-31.
121. R  szer T. Understanding the mysterious M2 macrophage through activation markers and effector mechanisms. *Mediators of inflammation*. 2015;2015.
122. Wang M, Fijak M, Hossain H, Markmann M, N  sing RM, Lochnit G, et al. Characterization of the micro-environment of the testis that shapes the phenotype and function of testicular macrophages. *The Journal of Immunology*. 2017;198(11):4327-40.
123. Niemi M, Sharpe R, Brown W. Macrophages in the interstitial tissue of the rat testis. *Cell and tissue research*. 1986;243(2):337-44.
124. DeFalco T, Potter SJ, Williams AV, Waller B, Kan MJ, Capel B. Macrophages contribute to the spermatogonial niche in the adult testis. *Cell reports*. 2015;12(7):1107-19.
125. Mossadegh-Keller N, Gentek R, Gimenez G, Bigot S, Mailfert S, Sieweke MH. Developmental origin and maintenance of distinct testicular macrophage populations. *Journal of Experimental Medicine*. 2017;214(10):2829-41.

126. Hedger MP. Macrophages and the immune responsiveness of the testis. *Journal of reproductive immunology*. 2002;57(1-2):19-34.
127. Hoeffel G, Chen J, Lavin Y, Low D, Almeida FF, See P, et al. C-Myb+ erythro-myeloid progenitor-derived fetal monocytes give rise to adult tissue-resident macrophages. *Immunity*. 2015;42(4):665-78.
128. Shaw TN, Houston SA, Wemyss K, Bridgeman HM, Barbera TA, Zangerle-Murray T, et al. Tissue-resident macrophages in the intestine are long lived and defined by Tim-4 and CD4 expression. *Journal of Experimental Medicine*. 2018;215(6):1507-18.
129. Schulz C, Perdiguero EG, Chorro L, Szabo-Rogers H, Cagnard N, Kierdorf K, et al. A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells. *Science*. 2012;336(6077):86-90.
130. van de Laar L, Saelens W, De Prijck S, Martens L, Scott CL, Van Isterdael G, et al. Yolk sac macrophages, fetal liver, and adult monocytes can colonize an empty niche and develop into functional tissue-resident macrophages. *Immunity*. 2016;44(4):755-68.
131. Lukyanenko YO, Chen J-J, Hutson JC. Production of 25-hydroxycholesterol by testicular macrophages and its effects on Leydig cells. *Biology of reproduction*. 2001;64(3):790-6.
132. Barakat B, O'Connor AE, Gold E, de Kretser DM, Loveland KL. Inhibin, activin, follistatin and FSH serum levels and testicular production are highly modulated during the first spermatogenic wave in mice. *Reproduction*. 2008;136(3):345-59.
133. Bhushan S, Tchatalbachev S, Lu Y, Fröhlich S, Fijak M, Vijayan V, et al. Differential activation of inflammatory pathways in testicular macrophages provides a rationale for their subdued inflammatory capacity. *The Journal of Immunology*. 2015;194(11):5455-64.
134. Winnall WR, Muir JA, Hedger MP. Rat resident testicular macrophages have an alternatively activated phenotype and constitutively produce interleukin-10 in vitro. *Journal of leukocyte biology*. 2011;90(1):133-43.

135. Xia W, Wong EW, Mruk DD, Cheng CY. TGF- β 3 and TNF α perturb blood–testis barrier (BTB) dynamics by accelerating the clathrin-mediated endocytosis of integral membrane proteins: a new concept of BTB regulation during spermatogenesis. *Developmental biology*. 2009;327(1):48-61.
136. Weissman BA, Niu E, Ge R, Sottas CM, Holmes M, Hutson JC, et al. Paracrine modulation of androgen synthesis in rat leydig cells by nitric oxide. *Journal of andrology*. 2005;26(3):369-78.
137. Gerdprasert O, O'Bryan MK, Nikolic-Paterson DJ, Sebire K, de Kretser DM, Hedger MP. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage colony-stimulating factor in normal and inflamed rat testis. *MHR: Basic science of reproductive medicine*. 2002;8(6):518-24.
138. Bhushan S, Theas MS, Guazzone VA, Jacobo P, Wang M, Fijak M, et al. Immune cell subtypes and their function in the testis. *Frontiers in Immunology*. 2020;11:583304.
139. Rival C, Theas MS, Suescun MO, Jacobo P, Guazzone V, Van Rooijen N, et al. Functional and phenotypic characteristics of testicular macrophages in experimental autoimmune orchitis. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*. 2008;215(2):108-17.
140. Rival C, Lustig L, Iosub R, Guazzone VA, Schneider E, Meinhardt A, et al. Identification of a dendritic cell population in normal testis and in chronically inflamed testis of rats with autoimmune orchitis. *Cell and tissue research*. 2006;324(2):311-8.
141. Jarazo-Dietrich S, Jacobo P, Pérez C, Guazzone V, Lustig L, Theas M. Up regulation of nitric oxide synthase–nitric oxide system in the testis of rats undergoing autoimmune orchitis. *Immunobiology*. 2012;217(8):778-87.
142. Pérez CV, Theas MS, Jacobo PV, Jarazo-Dietrich S, Guazzone VA, Lustig L. Dual role of immune cells in the testis: Protective or pathogenic for germ cells? *Spermatogenesis*. 2013;3(1):e23870.

143. Frungieri MB, Weidinger S, Meineke V, Köhn FM, Mayerhofer A. Proliferative action of mast-cell tryptase is mediated by PAR2, COX2, prostaglandins, and PPAR γ : possible relevance to human fibrotic disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99(23):15072-7.
144. Duan YG, Yu CF, Novak N, Bieber T, Zhu CH, Schuppe HC, et al. Immunodeviation towards a Th17 immune response associated with testicular damage in azoospermic men. *International journal of andrology*. 2011;34(6pt2):e536-e45.
145. Rodriguez MG, Rival C, Theas MS, Lustig L. Immunohistopathology of the contralateral testis of rats undergoing experimental torsion of the spermatic cord. *Asian journal of andrology*. 2006;8(5):576-83.
146. Zhang Y, Li N, Chen Q, Yan K, Liu Z, Zhang X, et al. Breakdown of immune homeostasis in the testis of mice lacking Tyro3, Axl and Mer receptor tyrosine kinases. *Immunology and cell biology*. 2013;91(6):416-26.
147. Tarbell KV, Rahman MJ. *Dendritic Cells in Autoimmune Disease. The Autoimmune Diseases: Elsevier*; 2020. p. 213-27.
148. Gao J, Wang X, Wang Y, Han F, Cai W, Zhao B, et al. Murine Sertoli cells promote the development of tolerogenic dendritic cells: a pivotal role of galectin-1. *Immunology*. 2016;148(3):253-65.
149. Guazzone VA, Rival C, Denduchis B, Lustig L. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1/CCL2) in experimental autoimmune orchitis. *Journal of reproductive immunology*. 2003;60(2):143-57.
150. Guazzone VA, Jacobo P, Denduchis B, Lustig L. Expression of cell adhesion molecules, chemokines and chemokine receptors involved in leukocyte traffic in rats undergoing autoimmune orchitis. *Reproduction (Cambridge, England)*. 2012;143(5):651-62.
151. Jacobo P, Guazzone VA, Jarazo-Dietrich S, Theas MS, Lustig L. Differential changes in CD4⁺ and CD8⁺ effector and regulatory T lymphocyte subsets in the testis of rats undergoing autoimmune orchitis. *Journal of reproductive immunology*. 2009;81(1):44-54.

152. Jacobo P, Pérez CV, Theas MS, Guazzone VA, Lustig L. CD4⁺ and CD8⁺ T cells producing Th1 and Th17 cytokines are involved in the pathogenesis of autoimmune orchitis. *Reproduction*. 2011;141(2):249-58.
153. Jacobo P, Guazzone VA, Pérez CV, Lustig L. CD 4⁺ F oxp3⁺ R egulatory T Cells in Autoimmune O rchitis: Phenotypic and Functional Characterization. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2015;73(2):109-25.
154. Tung KS, Harakal J, Qiao H, Rival C, Li JC, Paul AG, et al. Egress of sperm autoantigen from seminiferous tubules maintains systemic tolerance. *The Journal of clinical investigation*. 2017;127(3):1046-60.
155. Jacobo P. The role of regulatory T Cells in autoimmune orchitis. *Andrologia*. 2018;50(11):e13092-e13097.
156. LeBien TW, Tedder TF. B lymphocytes: how they develop and function. *Blood*. 2008;112(5):1570-80.
157. Ulivieri C, Valensin S, Majolini MB, Matthews RJ, Baldari CT. Normal B-1 cell development but defective BCR signaling in LCK^{-/-} mice. *European journal of immunology*. 2003;33(2):441-5.
158. O'Brien KL, Finlay DK. Immunometabolism and natural killer cell responses. *Nature Reviews Immunology*. 2019;19(5):282-90.
159. Vykhovanets EV, Resnick MI, Marengo SR. The healthy rat prostate contains high levels of natural killer-like cells and unique subsets of CD4⁺ helper-inducer T cells: implications for prostatitis. *The Journal of urology*. 2005;173(3):1004-10.
160. Vivier E, Tomasello E, Baratin M, Walzer T, Ugolini S. Functions of natural killer cells. *Nature immunology*. 2008;9(5):503-10.
161. Godfrey DI, Stankovic S, Baxter AG. Raising the NKT cell family. *Nature immunology*. 2010;11(3):197-206.
162. Wingender G, Krebs P, Beutler B, Kronenberg M. Antigen-specific cytotoxicity by invariant NKT cells in vivo is CD95/CD178-dependent and

- is correlated with antigenic potency. *The Journal of Immunology*. 2010;185(5):2721-9.
163. Mann ER, Li X. Intestinal antigen-presenting cells in mucosal immune homeostasis: crosstalk between dendritic cells, macrophages and B-cells. *World journal of gastroenterology*. 2014;20(29):9653-64.
 164. Nutt SL, Chopin M. Transcriptional networks driving dendritic cell differentiation and function. *Immunity*. 2020;52(6):942-56.
 165. Guilliams M, Ginhoux F, Jakubzick C, Naik SH, Onai N, Schraml BU, et al. Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny. *Nature Reviews Immunology*. 2014;14(8):571-8.
 166. Reizis B. Plasmacytoid dendritic cells: development, regulation, and function. *Immunity*. 2019;50(1):37-50.
 167. Durai V, Murphy KM. Functions of murine dendritic cells. *Immunity*. 2016;45(4):719-36.
 168. Park CS, Choi YS. How do follicular dendritic cells interact intimately with B cells in the germinal centre? *Immunology*. 2005;114(1):2-10.
 169. Knowles DM. *Neoplastic hematopathology*: Lippincott Williams & Wilkins; 2001:296-8.
 170. Mechlin C, Kogan B. Mast cells, estrogens, and cryptorchidism: A histological based review. *Translational andrology and urology*. 2012;1(2):97-102.
 171. Cross PC, Mercer KL. *Cell and tissue ultrastructure: a functional perspective*: WH Freeman New York; 1993.
 172. Krystel-Whittemore M, Dileepan KN, Wood JG. Mast cell: a multi-functional master cell. *Frontiers in immunology*. 2016;6:620-31.
 173. MacPherson G, Austyn J. *Exploring immunology: concepts and evidence*: John Wiley & Sons; 2012:5-45.

174. Moreno D, Sobarzo CM, Lustig L, Peña MGR, Guazzone VA. Effect of ketotifen fumarate on experimental autoimmune orchitis and torsion of the spermatic cord. *Asian journal of andrology*. 2020;22(1):112-7.
175. Iosub R, Klug J, Fijak M, Schneider E, Fröhlich S, Blumbach K, et al. Development of testicular inflammation in the rat involves activation of proteinase-activated receptor-2. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*. 2006;208(5):686-98.
176. Mayerhofer A, Walenta L, Mayer C, Eubler K, Welter H. Human testicular peritubular cells, mast cells and testicular inflammation. *Andrologia*. 2018;50(11):e13055.
177. Fijen J, Kobold AM, De Boer P, Jones C, Van Der Werf T, Tervaert JC, et al. Leukocyte activation and cytokine production during experimental human endotoxemia. *European journal of internal medicine*. 2000;11(2):89-95.
178. O'Garra A. Interleukins and the immune system 2. *The Lancet*. 1989;333(8645):1003-5.
179. Saroj P, Verma M, Jha K, Pal M. An overview on immunomodulation. *J Adv Sci Res*. 2012;3(1):7-12.
180. Jewo P, Duru F, Fadeyibi I, Saalu L, Noronha C. The protective role of ascorbic acid in burn-induced testicular damage in rats. *Burns*. 2012;38(1):113-9.
181. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett AT. Histopathology of prepubertal rat testes subjected to various durations of spermatic cord torsion. *Journal of andrology*. 1986;7(1):23-31.
182. Johnsen SG. Testicular biopsy score count—a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormone Research in Paediatrics*. 1970;1(1):2-25.
183. Dabak D, Aydin G, Ozguner M. Dynamics of mast cells in lymph node following antigenic stimulation. *Anatomia, histologia, embryologia*. 2004;33(1):5-10.

184. Erten M, Çimenci İG, Kuloğlu T, Kalaycı M, Erten F. The relationship between visfatin and cardiac markers on induced myocardial infarction in rats. *Cytokine*. 2019;115:116-20.
185. Türk G, Ateşşahin A, Sönmez M, Yüce A, Çeribaşı AO. Lycopene protects against cyclosporine A-induced testicular toxicity in rats. *Theriogenology*. 2007;67(4):778-85.
186. McLachlan RI, de Kretser DM. Male infertility: the case for continued research: Even with modern assisted-reproduction technologies, clinical assessment and basic research. *Med J Aust*. 2001;174(3):116-7.
187. Blasko ARN, Bulas D, Shalaby-Rana E, Rushton G, Shao C, Majd M. Color Doppler sonography and scintigraphy of the testis: a prospective, comparative analysis in children with acute scrotal pain. *Pediatric emergency care*. 2002;18(2):67-71.
188. McAndrew H, Pemberton R, Kikiros C, Gollow I. The incidence and investigation of acute scrotal problems in children. *Pediatric surgery international*. 2002;18(5-6):435-7.
189. Anderson J, Williamson R. The fate of the human testes following unilateral torsion of the spermatic cord. *British journal of urology*. 1986;58(6):698-704.
190. Kapoor S. Testicular torsion: a race against time. *International journal of clinical practice*. 2008;62(5):821-7.
191. Schanaider A, Aiex C, Errico G. Immunological effects of acute testicular torsion on the contralateral testis in rats. *European Journal of Pediatric Surgery*. 2011;21(06):370-4.
192. Arap MA, Vicentini FC, Cocuzza M, Hallak J, Athayde K, Lucon AM, et al. Late hormonal levels, semen parameters, and presence of antisperm antibodies in patients treated for testicular torsion. *Journal of andrology*. 2007;28(4):528-32.
193. Cattolica EV, Karol JB, Rankin KN, Klein RS. High testicular salvage rate in torsion of the spermatic cord. *The Journal of urology*. 1982;128(1):66-8.

194. Palmer JS, Plzak LF, Cromie WJ. Comparison of blood flow and histological changes in rat models of testicular ischemia. *The Journal of urology*. 1997;158(3):1138-40.
195. Hadziselimovic F, Geneto R, Emmons L. Increased apoptosis in the contralateral testes of patients with testicular torsion as a factor for infertility. *The Journal of urology*. 1998;160(3 Part 2):1158-60.
196. Anderson MJ, Dunn JK, Lipshultz LI, Coburn M. Semen quality and endocrine parameters after acute testicular torsion. *The Journal of urology*. 1992;147(6):1545-50.
197. Anderson J, Williamson R. Fertility after torsion of the spermatic cord. *British journal of urology*. 1990;65(3):225-30.
198. Becker E, Prillaman H, Turner T. Microvascular blood flow is altered after repair of testicular torsion in the rat. *The Journal of urology*. 1997;157(4):1493-8.
199. Hoşcan MB, Özorak A, Tuncer H. Ratlarda deneysel testis torsiyonu ve iskemi-reperfüzyon modeli. *Erişim tarihi*. 2017;4(10):303-5.
200. Kallerhoff M, Gross A, Bötöfür I, Zöller G, Weidner W, Holstein A, et al. The influence of temperature on changes in pH, lactate and morphology during testicular ischaemia. *British journal of urology*. 1996;78(3):440-5.
201. Freedman S, Chehval M, Mehan D. Enzymatic changes in experimental testicular torsion. *Investigative urology*. 1981;19(3):209-10.
202. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett AT. Histological changes occurring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. *The Journal of urology*. 1985;133(5):906-11.
203. Jhunjhunwala JS, Hikim APS, Budd CA, Chakraborty J. Germ cell degeneration in the contralateral testis of the guinea pig with unilateral torsion of the spermatic cord quantitative and ultrastructural studies. *Journal of andrology*. 1986;7(1):16-22.

204. Dokmeci D, Inan M, Basaran UN, Yalcin O, Aydogdu N, Turan FN, et al. Protective effect of L-carnitine on testicular ischaemia–reperfusion injury in rats. *Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease*. 2007;25(6):611-8.
205. Elshaari F, Elfagih R, Sheriff D, Barassi I. Testicular torsion-detorsion-histological and biochemical changes in rat testis. *J Cytol Histol*. 2012;3:136-84.
206. Erdem AO, Coşkun ÖD, Başer AT, Şirinyıldız F, Ek R, Çulhacı N, et al. Comparison of the effects of intermittent reperfusion and hypothermia in preventing testicular ischemia-reperfusion injury in the testicular torsion model in rats. *Journal of pediatric urology*. 2019;15(6):617-23.
207. Enguita-Marruedo A, Sleddens-Linkels E, Ooms M, de Geus V, Wilke M, Blom E, et al. Meiotic arrest occurs most frequently at metaphase and is often incomplete in azoospermic men. *Fertility and sterility*. 2019;112(6):1059-70.
208. Ulker N, Yardimci A, Tektemur NK, Bulmus O, Kaya SO, Bulmus FG, et al. Irisin may have a role in pubertal development and regulation of reproductive function in rats. *Reproduction*. 2020;160(2):281-92.
209. Shokoohi M, Shoorei H, Soltani M, Abtahi-Eivari SH, Salimnejad R, Moghimian M. Protective effects of the hydroalcoholic extract of *Fumaria parviflora* on testicular injury induced by torsion/detorsion in adult rats. *Andrologia*. 2018;50(7):e13047-e13055.
210. Ozbal S, Ergur BU, Erbil G, Tekmen I, Bağrıyanık A, Cavdar Z. The effects of α -lipoic acid against testicular ischemia-reperfusion injury in rats. *The Scientific World Journal*. 2012;2012:489248.
211. Yang C, Song B, Tan J, Liu X, Wei Gh. Testicular torsion in children: a 20-year retrospective study in a single institution. *The Scientific World Journal*. 2011;11:362-8.
212. Dejban P, Rahimi N, Takzare N, Jahansouza M, Haddadi N-S, Dehpour AR. Beneficial effects of dapsona on ischemia/reperfusion injury following

- torsion/detorsion in ipsilateral and contralateral testes in rat. *Theriogenology*. 2019;140:136-42.
213. Yuluğ E, Türedi S, Karagüzel E, Kutlu Ö, Menteşe A, Alver A. The short term effects of resveratrol on ischemia–reperfusion injury in rat testis. *Journal of pediatric surgery*. 2014;49(3):484-9.
 214. Wei S-M, Huang Y-M, Zhou J. Probucol reduces testicular torsion/detorsion-induced ischemia/reperfusion injury in rats. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2017;2017:5424097.
 215. Riedemann NC, Ward PA. Complement in ischemia reperfusion injury. *The American journal of pathology*. 2003;162(2):363-7.
 216. Görlach A, Bertram K, Hudecova S, Krizanova O. Calcium and ROS: a mutual interplay. *Redox biology*. 2015;6:260-71.
 217. Sertkaya Z, Öztürk Mİ, Koca O, Akyüz M, Gümrükçü G, Karaman Mİ. Prophylactic Effects of Verapamil in Testicular Ischemia-reperfusion Damage in Rats. *The Medical Journal Of Haydarpaşa Numune Training and Research Hospital*. 2020;60(3):279-83.
 218. Schumer M, Colombel M, Sawczuk IS, Gobe G, Connor J, O'toole K, et al. Morphologic, biochemical, and molecular evidence of apoptosis during the reperfusion phase after brief periods of renal ischemia. *The American journal of pathology*. 1992;140(4):831-8.
 219. Assis PVd, Aydos RD, Silva IS, Marks G, Takita LC, Gonçalves MA, et al. Expression of FAS ligand in the ipsilateral and contralateral testicles of rats subjected to the torsion of the unilateral testicular cord. *Acta cirurgica brasileira*. 2013;28(7):518-22.
 220. Sukhotnik I, Miselevich I, Lurie M, Nativ O, Coran AG, Mogilner JG. The time relationship between ipsilateral testicular ischemia and germ cell apoptosis in the contralateral testis in rat. *Pediatric surgery international*. 2005;21(7):512-6.
 221. Aydos TR, Başar MM, Kul O, Atmaca HT, Uzunalioğlu T, Kisa Ü, et al. Effects of ozone therapy and taurine on ischemia/reperfusion-induced

- testicular injury in a rat testicular torsion model. Turkish journal of medical sciences. 2014;44(5):749-55.
222. Koc A, Narci A, Duru M, Gergerlioglu HS, Akaydin Y, Sogut S. The protective role of erdosteine on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. Molecular and cellular biochemistry. 2005;280(1):193-9.
 223. Cho YM, Pu HF, Huang W, Ho LT, Wang SW, Wang P. Role of serum-and glucocorticoid-inducible kinase-1 in regulating torsion-induced apoptosis in rats. International journal of andrology. 2011;34(4pt1):379-89.
 224. Meinhardt A, Wang M, Schulz C, Bhushan S. Microenvironmental signals govern the cellular identity of testicular macrophages. Journal of leukocyte biology. 2018;104(4):757-66.
 225. Hans CP, Sharma N, Sen S, Zeng S, Dev R, Jiang Y, et al. Transcriptomics analysis reveals new insights into the roles of Notch1 signaling on macrophage polarization. Scientific reports. 2019;9(1):1-21.
 226. Muimo R. Classical activation of macrophages and vardenafil. Clinical Science. 2017;131(11):1141-5.
 227. Tshabalala T. The efficacy of a homoeopathic Similasan Nasal Allergy Relief Spray® in the management of allergic rhinitis in terms of the CARAT questionnaire 2017.
 228. Ünal RN, Ekici EM. İnsülin Direnci, Beslenme ve Yağlı Yeme İsteği ile CD36 Reseptörü İlişkisi. Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi. 2017; 5(9):1108-18.
 229. Polfliet MM, Fabriek BO, Daniëls WP, Dijkstra CD, van den Berg TK. The rat macrophage scavenger receptor CD163: expression, regulation and role in inflammatory mediator production. Immunobiology. 2006;211(6-8):419-25.
 230. Yamate J, Ishimine S, Izawa T, Kumagai D, Kuwamura M. Macrophage populations and expressions of regulatory proinflammatory factors in the rat meninx under lipopolysaccharide treatment in vivo and in vitro. Histology and histopathology. 2009;24(1):13-24.

231. Wang J, Wreford N, Lan H, Atkins R, Hedger M. Leukocyte populations of the adult rat testis following removal of the Leydig cells by treatment with ethane dimethane sulfonate and subcutaneous testosterone implants. *Biology of reproduction*. 1994;51(3):551-61.
232. Hutson JC. Changes in the concentration and size of testicular macrophages during development. *Biology of reproduction*. 1990;43(5):885-90.
233. Ponte R, Dupuy FP, Brimo F, Mehraj V, Brassard P, Belanger M, et al. Characterization of myeloid cell populations in human testes collected after sex reassignment surgery. *Journal of reproductive immunology*. 2018;125:16-24.
234. Mills C. M1 and M2 macrophages: oracles of health and disease. *Critical Reviews™ in Immunology*. 2012;32(6):463-88.
235. Akgür FM, Kiliç K, Aktuğ T. Is ipsilateral testis mandatory for the occurrence of contralateral intratesticular biochemical changes indicative of hypoxia after unilateral spermatic cord torsion? *European urology*. 1995;28:143-6.
236. Koşar A, Küpeli B, Alçıgır G, Ataoglu H, Sarıca K, Küpeli S. Immunologic aspect of testicular torsion: detection of antisperm antibodies in contralateral testicle. *European urology*. 1999;36(6):640-4.
237. Karagüzel G, Güngör F, Karagüzel G, Yıldız A, Melikoğlu M. Unilateral spermatic cord torsion without ipsilateral spermatogenetic material: effects on testicular blood flow and fertility potential. *Urological research*. 2004;32(1):51-4.
238. Turner TT. On unilateral testicular and epididymal torsion: no effect on the contralateral testis. *The Journal of urology*. 1987;138(5):1285-90.
239. Lu L-F, Lind EF, Gondek DC, Bennett KA, Gleeson MW, Pino-Lagos K, et al. Mast cells are essential intermediaries in regulatory T-cell tolerance. *Nature*. 2006;442(7106):997-1002.

240. Gaytan F, Carrera G, Pinilla L, Aguilar R, Bellido C. Mast cells in the testis, epididymis and accessory glands of the rat: effects of neonatal steroid treatment. *Journal of andrology*. 1989;10(5):351-8.
241. Gaytan F, Bellido C, Lucena M, Paniagua R. Increased number of mast cells in the testis of neonatally estrogenized rats. *Archives of andrology*. 1986;16(3):175-82.



ÖZ GEÇMİŞ

2007 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde tıp eğitimime başladım ve 2013 yılında mezun oldum. 2013 yılında mecburi hizmetime Bingöl 112 Komuta Kontrol Merkezi'nde pratisyen hekim olarak başladım. Hekimliğime 2014 yılında Elazığ 112 Komuta Kontrol Merkezi'nde devam ettim. 2018 yılında Fırat üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım ve burada halen uzmanlık eğitimime devam etmekteyim.

