

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL ORŞİT MODELİNDE KONTRALATERAL
TESTİSTE ANTİSPERM ANTİKORA BAĞLI DEĞİŞİMLERİN
VE P/E SELEKTİN BLOKAJININ KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Özkan CESUR

UZMANLIK TEZİ

KIRIKKALE

2011

**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL ORŞİT MODELİNDE KONTRALATERAL
TESTİSTE ANTİSPERM ANTİKORA BAĞLI DEĞİŞİMLERİN
VE P/E SELEKTİN BLOKAJININ KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Özkan CESUR

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. M. Kemal ASLAN

KIRIKKALE

2011

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29.07.2011

Doç. Dr. Tutku SOYER
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Cerrahisi A.D. Başkanı
Jüri Başkanı

Yrd. Doç. Dr. M. Kemal ASLAN
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Cerrahisi A. D.
Üye

Yrd. Doç. Dr. Şebnem K. AYVA
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji A. D.
Üye

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince engin bilgi, deneyim ve yardımlarıyla teorik ve pratik açıdan en iyi şekilde yetişmemi sağlayan, bilimsel açıdan yönlendirmede emek harcayan, asistanı olmaktan her zaman onur duyduğum ve daima onur duyacağım saygı değer hocam Prof. Dr. A. Murat ÇAKMAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimimde bilgi ve deneyimlerini esirgemerek, sabırla, güler yüzü ile destek olan değerli hocam, Doç. Dr. Tutku SOYER'e teşekkür ederim.

Bilgi ve deneyimlerinden yaralandığım, emeklerini esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Mustafa Kemal ASLAN'a teşekkür ederim.

Tezimin histopatolojik değerlendirilmesini yapan değerli hocam Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji A.D. Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Şebnem Küpana AYVA'ya teşekkür ederim.

Bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Mine F. ŞENYÜCEL'e teşekkür ederim.

Tezimin biyokimyasal değerlendirilmesini yapan değerli hocam Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D. Öğretim Üyesi Prof. Dr. Üçler KISA'ya teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarım Hülya Akman, Murat Kaya, K. Öymen Hançerlioğulları ve Feyza Türkmen'e; hemşire arkadaşlarıma ve tüm hastane personelimize teşekkür ederim.

Yaşamlarının her anında bana emek verip örnek olan, esirgeyiciliklerini her zaman hissettiğim sevgili annem ve babama; canım kardeşlerime teşekkür ederim.

ÖZET

Cesur Ö. Deneysel orşit modelinde kontralateral testiste antisperm antikora bağlı değişimlerin ve P/E-selektin blokajının koruyucu etkinliğinin değerlendirilmesi. Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2011.

Orşitte antimikrobiyal tedavinin ve nötrofil infiltrasyonuna neden olarak kan testis bariyerinin bozulmasına neden olan P/E-selektinin blokajının kontralateral testis hasarını önlemede etkinliğini değerlendirmek üzere deneysel bir çalışma yapılmıştır.

Her grupta 6 adet sıçanın kullanıldığı 6 grup oluşturuldu. Kontrol grubunda (KG) testisler çıkarılırken, sham grubunda testislere (SG) 1 ml SF enjeksiyonu yapıldı. Orşit grubu (OG) sağ testise 0.1 ml 10^6 cfu/ml E.Coli (0:6 strain) ve 1 ml SF enjekte edilerek elde edildi. Antimikrobiyal tedavi grubuna (AG) orşit oluşturulduktan 24 saat sonra siprofloksasin (50 mg/kg,im) yapıldı. P/E-selektin blokaj grubuna (PESG) P/E-selektin antikoru (100 microg-mixture, IM). Son tedavi grubunda (TG) orşit sonrası hem siprofloksasin hem de P/E-selektin antikoru verildi. Antibiyotik verilen gruplarda tedaviye 14 gün devam edilip 0 ve 14. günlerde antisperm antikoru (ASA), P-selektin ve E-selektin için serum örneği alındı. Cosentino ve Johnsen skorları ile testiküler hasarı değerlendirilmek üzere 14. günün sonunda sağ ve sol testisler çıkarıldı. Orşit oluşturulan tüm gruplarda (OG, AG, PESG ve TG) SG'ye oranla 14. günlerde ASA düzeylerinde anlamlı artış saptandı ($p<0.05$). TG'de ASA düzeylerinin AG'ye göre azaldığı ($p<0.05$), ancak PESG grubunda benzer azalmanın gözlenmediği izlendi ($p>0.05$). Histopatolojik incelemede sağ testiste AG ile OG arasında anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). TG ve PESG'de ise OG'ye oranla lenfosit sayılarında azalma olurken Johnsen skorları ise artmış bulunmuştur ($p<0.05$). Gruplarda sağ ve sol testisler karşılaştırıldığında yalnız AG ve OG'de kontralateral testiste Johnsen skorları artmış bulunmuştur ($p<0.05$). P/E-selektin blokajı antimikrobiyal tedavi ile birlikte verilmesi durumunda ASA oluşumunu azaltmaktadır.

P/E-selektin blokajı yapılmayan gruplarda kontralateral testiste orşit olan tarafa göre histopatolojik hasarda artış gözlenmektedir.

ABSTRACT

Cesur Ö. Evaluation Of Alterations Due To Antisperm Antibody In Contralateral Testis And Protective Effect Of P/E-Selectin Blockage In Experimental Orchitis. Kırıkkale University, Medical Faculty, Kırıkkale, 2011.

An experimental study was performed to evaluate the efficacy of antimicrobial therapy and preventive effect of p/e-selectin blockage (a cause of blood testicle damage due to neutrophyl infiltration) in contralateral testis in experimental orchitis.

The 6-group covering each group of 6 rats was created. When the control group (CG), the testes removed, 1 ml saline was injected in the sham group (SG). Orchitis group (OG) was obtained by injecting 0.1 ml 10^6 cfu/ml E.Coli (0:6 strain) and 1 ml saline in the right testis. In antimicrobial treatment group (AG), the ciprofloxacin (50 mg / kg, Im) were given 24 hours after orchitis. In P/E-selectin blockade group (PESG), P/E-selectin antibody (100 microrg-mixture, IM) were given. In the last treatment group (TG), antibiotics were given as well as P/E-selectin antibody. In the groups which received antibiotic treatment, serum samples for antisperm antibody (ASA), P-selectin and E-selectin for in were taken on the 0. and 14. day, when the treatment were proceed for 14 days. The right and left testes were removed at the end of 14. day, to evaluate Johnsen score and testicular damage.

In OG, AG, PESG ve TG, ASA levels were significantly increased when compared to SG at day 14 ($p < 0.05$). In TG, ASA levels were decreased with respect to AG ($p < 0.05$), however PESG did not cause similar decrease ($p > 0.05$). Histopathologic evaluation showed no difference between AG and OG in right testicle ($p > 0.05$). In TG and PESG, lymphocyte numbers were decreased and Johnsen scores were decreased when compared to OG ($p < 0.05$). When right and left testicles were compared only AG and OG had increased Johnsen scores in contralateral testis ($p < 0.05$).

P/E-selectin blockage decreases ASA levels when used with antimicrobial treatment. In groups without P/E-selectin blockage contralateral

testis show increased histopathologic injury when compared to testis with orchitis.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER	xi
TABLOLAR	xii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Testisin Embriyolojisi	3
2.2. Testisin Anatomisi	5
2.3. Testisin Histolojisi	6
2.3.1. Kan Testis Bariyeri	7
2.4.1. Testisin İmmün Ayrıcalığı	11
2.4.1.1. Testiküler İnflamasyonda Hormonal Düzenleme	12
2.4.1.2. Testiküler İnflamasyonda Sitokinlerin Rolü	13
2.4.1.3. Testiküler İnflamasyonda Hücrelerin Rolü	13
2.4.2. Epididimoorşit	14
2.4.3. İnflamasyon	15
2.4.3.1. Akut İnflamasyon	16
2.3.2. İnfeksiyonlara Karşı Konağın Savunmasında Lökosit Adezyon Moleküllerinin Rolü	19
3. GEREÇ – YÖNTEM	24
3.1. Hayvanlar ve Yemleri	24
3.2. Çalışma Grupları	24
3.3. Biyokimyasal İnceleme Metodu	25
3.3.1. ELİSA Yöntemi ile ASA Serum Değerleri Ölçümü	25
ELİSA Yöntemi ile P-Selektin Serum Değerleri Ölçümü	
ELİSA Yöntemi ile E-Selektin Serum Değerleri Ölçümü	

3.4. Histopatolojik inceleme	25
3.5. İstatiksel Çalışma Metodu	26
3.6. Etik Kurul İzni	27
4. BULGULAR	28
4.1. Biyokimyasal İnceleme	28
4.2. Histopatolojik Değerlendirme	35
TARTIŞMA	43
SONUÇLAR	47
KAYNAKLAR	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

KG	Kontrol Grubu
SG	Sham Grubu
SF	Serum Fizyolojik
OG	Orşit Grubu
AG	Antimikrobiyal Tedavi Grubu
PESG	P/E-Selektin Blokaj Grubu
TG	Tedavi Grubu
ASA	Antisperm Antikor
CG	Control Group
SG	Sham Group
SF1	Steroidogenezis Faktörü 1
MIS	Müllerian İnhibe Edici Madde
LH	Lüteinizan Hormon
FSH	Folikül Stimulan Hormon
PMN	Polimorfonükleer Lökositler
DIC	Dissemine İntravasküler Kogülasyon
ARDS	Adult Respiratuar Distres Sendromu
EH	Endotel Hücreleri
ICAM-1	İnterselüler Adezyon Molekülü-1
PECAM-1	Trombosit Endotelyal Hücre Adezyon Molekülü-1
TEM	Transendotelyal Migrasyonlar
LPS	Lipopolisakarid
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
SD	Standart Sapma
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör-alfa
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
IL-4	İnterlökin-4
IL-13	İnterlökin-13
IL-10	İnterlökin-10

SRY	Seks determining region of Y
TGF- β	Transforming growth faktor- β
INF- γ	Interferon-gamma
NF-kB	Nukleer faktor kappa B
PAF	Platelet aktive edici faktor
DAX 1	Dosage-sensitive sex reversal-Adrenal hypoplasia congenita (AHC) critical region on the X chromosome gene
SLe X	Sialyl Lewis X
PCR	Polymerase chain reaction

ŞEKİLLER

Şekil 2.3.1. Testisin İmmunolojik Komponentleri ve Kan-Testis Bariyeri	9
Şekil 2.4.3.1. Endotel-Lökosit Etkileşimi	18
Şekil 4.1.1. Grupların Kendi İçlerinde 0. ve 14. Günlerdeki ASA Ortanca Değerlerinin Değişim Farkları	29
Şekil 4.1.2. Grupların Kendi İçlerinde 0. ve 14. Günlerdeki E-Selektin Ortanca Değerlerinin Değişim Farkları	30
Şekil 4.1.3. Grupların Kendi İçlerinde 0. ve 14. Günlerdeki P-Selektin Ortanca Değerlerinin Değişim Farkları	31
Şekil 4.2.1. Histopatolojik İnceleme	35
Şekil 4.2.2. Sağ ve Sol Testiste Cosentino Hasar ve Johnsen Skor Değerlerinde Gruplar Arasında Ortaya Çıkan Farklılık	42

TABLULAR

Tablo 2.3.1. Testiküler Doğal İmmün Hücreler	10
Tablo 2.4.1. Testiküler İnflamasyonda Etiyolojik Faktörler	12
Tablo 4.1.1. Deney Gruplarında 0. ve 14. Günlerde ASA, P-Selektin, E-Selektin Düzeylerinin Ortanca Değerleri ve Grupların Kendi İçinde Karşılaştırılması	28
Tablo 4.1.2. ASA, E-Selektin, P-Selektin Düzeylerinin 0. ve 14. Günde Gruplar Arası Karşılaştırılması	34
Tablo 4.2.1. Gruplarda Histopatolojik Parametrelerin Sağ ve Sol Testisler Arasında Karşılaştırılması	39
Tablo 4.2.2. Sağ ve Sol Testiste Cosentino Hasar ve Johnsen Skor Ortanca Değerleri	40
Tablo 4.2.3. Grupların Sağ Testis Histopatolojik İncelemelerinde Kendi Aralarında Ortaya Çıkan Farklılıkları	41

GİRİŞ

Epididimoorşit akut skrotum sebepleri içinde en sık rastlanan patolojilerdendir. Nörojenik mesane, ektopik üreter, hipospadias ve anorektal malformasyon gibi üriner sistem anomalileri olan veya yakın zamanda üriner enstrümantasyon veya kateterizasyon yapılmış çocuklarda da karşımıza çıkabilmektedir. Sıklıkla E.Coli patojeni eradike edilmesine rağmen kabakulak ve viral enfeksiyonlarda, Henoch-Schönlein Purpurası gibi nonenfeksiyöz otoimmün bozukluklarda da epididimoorşit ortaya çıkabilmektedir [1].

Testisler vücutta çok iyi korunmuş organlardır. Spermatozoal antijenlerin dışarı çıkmasına ya da dolaşımdaki immüoglobulinlerin veya immünolojik aktif hücrelerin içeri girmelerini önleyecek bir yapıya sahiptirler. Bu yapı testiste bazal membrana oturmuş olan sertoli hücrelerinin hem kendi aralarında hem de komşu germ hücreleri ile yapmış olduğu kan-testis bariyeridir. Kan-testis bariyerinin bozulmasına neden olan unilateral epididimoorşit, torsiyon, varikosel, testiküler kanser veya travma, testis biyopsisi gibi olaylar antisperm antikor oluşumuna neden olabilir [2].

Akut epididimoorşitin antisperm antikor oluşumuna neden olduğu olduğu ve antisperm antikor varlığı ile epididimoorşit olan tarafta ve kontralateral hasarla olan ilişkisi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [3].

DeneySEL E.Coli ile oluşturulan epididimoorşit çalışmalarında testiste testiküler torsiyonda görülen iskemi reperfüzyon hasarı gibi oksidatif stres etkileri araştırmalara konu olmuştur [4]. E.Coli'ye karşı vücut savunması patojenin testiküler ve epididimal makrofajlarca tanınması ile başlamaktadır. Makrofajlarca salınan sitokin (TNF-alfa, IL-1, IL-6)'ler endotelden P/E-selektin salınımı ile nötrofil infiltrasyonuna yol açarak, kan-testis bariyeri bozulmasına sebep olmaktadır [5].

Kan testis bariyeri bozulması testisten salınan antijenik materyalin immün sistemi uyarmasına neden olur. Bu şekilde oluşan otoantikorlar ise sağlam olan karşı taraf testise saldırarak testisin fonksiyonlarında bozulmalara yol açabilmektedir. Yine kan testis bariyerinde olan bozulmaların

sitokinleri açığa çıkararak karşı taraf testiste apopitozise yol açtığı da düşünülmektedir. Sonuçta E.Coli ile başlayan inflamasyon sonrasında nonbakteriyel inflamasyon ile devam etmektedir [6, 7]. Orşit oluşturularak yapılan çalışmalar; orşitin kan-testis bariyeri bozulmasına; ortaya çıkan sitokinlerin karşı taraf testiste apopitozise; antisperm antikör oluşumuna neden olduğunu ortaya koymuştur [8].

Literatürde, yeterli antimikrobiyal tedavinin, patojeni eradike etmesine ve epididimal-testiküler hasarın derecesini azaltmasına rağmen karşı taraf epididimal-testiküler inflamasyonu ve buna bağlı hasarı önleyemediği bildirilmiştir [6, 7]. Hücrelerin özgül olarak dokulara yönlennemelerinde ve enflamasyonda görev alan adezyon molekülleri grubunda yer alan selektinlerin enflamasyonda etkileri ortaya konmuştur [9]. Tüm bu bilgiler doğrultusunda oluşturulacak orşit modelinde patojeni eradike etmeye yönelik antimikrobiyal tedaviye ek olarak nötrofil infiltrasyonuna neden olarak kan testis bariyeri bozulmasında rol alan P/E-selektinin blokajı [10, 11, 12, 13] ile karşı taraf testiküler hasarın önlenebilirliğini göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

Epididimoorşit'te oluşan biyokimyasal ve yapısal değişiklikleri değerlendirebilmek için öncelikle testisin embriyolojik gelişimi ve morfolojisi incelenmelidir.

2.1. Testisin Embriyolojisi

Gonadlar başlangıçta bir çift uzunlamasına, kölomik epitelin proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşmuş genital veya gonadal sırtlar halinde belirirler. Gelişimin 6. haftasına kadar bu genital sırtlar içinde germ hücreleri yoktur [14].

Genital system, gonadlar ve primitif cinsiyet bezleri, genital kanallar ve dış genital organlardan oluşur. Her üç komponent de, farklanmamış bir evreden geçerek erkek veya dişi yönüne doğru gelişirler. Y kromozomu üzerinde yer alan SRY geni üretimini sağladığı testis belirleyici faktörüyle cinsiyetin erkek tipinde devam etmesini sağlarlar [14].

Primordiyal germ hücreleri, gelişimin erken evrelerinde yolk kesesinin allontoise yakın duvarındaki endoderm hücreleri arasında belirirler. Sonbarsağın mezenterinin dorsali boyunca ameboid hareketlerle ilerleyerek, 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşır, 6. haftada da genital sırtları işgal ederler. Bu hücreler genital sırtlara ulaşamadıkları takdirde gonadlar gelişemez. Gonadların over veya testise farklanmasında primordiyal germ hücrelerinin indükleyici etkisi vardır [14].

Primordiyal germ hücrelerinin primitif gonadlara ulaşmasından hemen önce ve ulaşması sırasında, genital sırtın epitel proliferasyonu olur ve epitel hücreleri altlarındaki mezenşimin içine gömülürler. Bunlar burada primitif cinsiyet kordonları denilen irregüler şekilli kordonlar oluştururlar. Hem erkek hem de dişi embriyolarda bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdır ve bu dönemde erkek veya dişi gonadlarının birbirinden ayırt edilebilmesi mümkün değildir. Bu devredeki gonad farklanmamış gonad olarak bilinir [14].

Genetik olarak erkek embriyoda, primordiyal germ hücrelerinin cinsiyet kromozomları XY'dir. Testis belirleyici faktörü kodlayan Y kromozomu üzerindeki SRY geninin etkisiyle, primitif cinsiyet kordonları testis veya meduller kordonları oluşturmak üzere, çoğalmaya devam edip medullanın derinliklerine doğru ilerlerler. Bu kordonlar bezin hilusuna doğru, daha sonra rete testis tübüllerini oluşturacak ince hücre sıralarından ibaret bir ağ şeklinde dağılırlar. Gelişimin daha ileri evrelerinde testis kordonlarının yüzey epiteliyle olan ilişkileri tunika albuginea adlı yoğun fibroz bir bağ dokusunun araya girmesiyle sona erer [14].

Dördüncü ayda, testis kordonları atnalı şeklini alır ve bu atnalının uçları rete testis ile devam eder. Bu durumda testis kordonları artık primitif germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden köken almış Sertoli destek hücrelerinden meydana gelmiştir [14].

Gonadal sırtın orijinal mezeneşiminden köken alan interstisyel Leydig hücreleri testis kordonlarının arasında bulunur ve bu kordonların farklanmaya başlamasından hemen sonra gelişmeye başlarlar. Gestasyonun 8. haftasında, Leydig hücreleri testosteron üretmeye başlarlar. Testisler artık genital kanalları ve dış genital organların cinsiyetini etkileyecek hale gelmiştir [14].

Sertoli ve Leydig hücreleri SRY geniyle başlayan gen aktivasyonu ile ortaya çıkan steroidogenezis faktörü 1 (SF1) ve SOX 9'un uyarısıyla farklanırlar. SRY geninin ekspresyonu: (a) medüller (testis) kordonlarının gelişmesini, (b) tunika albugineanın oluşmasını ve (c) kortikal (ovarian) kordonların gelişimini durmasını sağlar. SRY geninin yokluğu, SF1'i baskılayan DAX1 ekspresyonu ve genital sırttan devam eden JT4 ekspresyonu ile birlikte over oluşumunu uyararak, (a) tipik kortikal kordonların oluşmasına, (b) medullar (*testis*) kordonların kaybolmasına ve (c) tunika albugineanın gelişimini durmasına neden olur. Primordial germ hücreleri, farklanmamış gonada ulaşamadıkları takdirde de gonad farklanmayarak yok olur gider [14].

Farklanmamış kanal sistemi ve dış genital organlar hormonların etkisiyle gelişir. Leydig hücreleri tarafından salgılanan testosteron mezonefrik kanalların (vas deferens, epididim) gelişmesini uyarırken, Sertoli hücreleri tarafından yapılan müllerian inhibe edici madde (MIS), paramezonefrik

kanallann (dişi kanal sistemi) gerilemesini sağlar. Penis, skrotum gibi dış genital organların ve prostatın gelişimi dihidrotestosteron tarafından uyanılır [14].

Mezonefroz gerilerken, epigenital tübuller adı verilen birkaç boşaltım kanalı rete testis kordonlarıyla ilişki kurarak sonunda duktuli efferentsleri oluşturur. Testisin kaudal kutbundaki boşaltım kanallarıysa, paragenital tübuller, rete testis kordonlarıyla birleşmez. Bunların kalıntıları topluca paradidimis olarak bilinir [14].

Mezonefrik kanallar en kranialdeki kısımları, apendiks epididim, dışında sebat ederek, ana genital kanalları oluştururlar. Mezonefrik kanallar efferent duktusların giriş yerinin hemen altından itibaren uzayıp, kıvrıntılı bir yapı halini alarak, (duktus) epididimi oluştururlar. Duktus deferens, mezonefrik kanalın epididimin kuyruğundan, seminal vezikül tomurcuğuna kadar, kalın bir kas kılıfına bürünmesiyle oluşur. Duktus deferensin seminal vezikülden sonraki parçasına ejakulatuvar kanal denir. Paramezonefrik kanallar erkeklerde kranial uçlarındaki bir kısım dışında (appendiks testis) dejenere olurlar [14].

Puberteye kadar solid halde kalan testis kordonları pubertede lümenleri ayrılarak seminifer tubuller haline gelirler. Seminifer tübüller kanalize olur olmaz rete testis tübüleriyle birleşir ve duktuli efferentslere girerler. Bu efferent duktuslar mezonefrik sistemin geride kalmış boşaltım tübülleridir. Duktus deferens olarak bilinen bu kanallar, rete testis ile mezonefrik veya wolffian kanalları birbirine bağlarlar [14].

2.2. Testisin Anatomisi

Hormon ve spermatozoa ile üretmekle görevli olan testisler, karın ön duvarında torba şeklinde uzantısı olan skrotum içinde yer alırlar [15]. Yaklaşık olarak 4-5 cm uzunluğunda, 2,5 cm genişliğinde, 3 cm kalınlığında ve 10-14 g ağırlığındadır [16]. Yaklaşık hacmi 30 ml'dir [17]. Sol testis sağa oranla daha aşağıda bulunur [16]. Spermatik kordona asılı olarak bulunan testislerin iç ve dış olmak üzere iki yüzü, ön ve arka olmak üzere iki kenarı, üst ve alt olmak üzere de iki ucu vardır. Testisin ön kenarı, her iki yüzü ve uçları tunika vaginalis ile örtülüdür. Spermatik kordonun tutunduğu arka

kenarının ise sadece dış yan kısmı tunika vaginalis ile örtülüdür. Arka kenarının örtülü olmayan kısmına ise epididim tutunur [15].

2.3. Testisin Histolojisi

İnterstisyel Doku:

Testis dokusunun %25-30'unu interstisyel doku oluşturur. İntertübüler bölgede Leydig hücreleri, kan damarları, lenfatikler, sinirler, makrofajlar ve mast hücreleri bulunur. Leydig hücreleri ergenlikte ortaya çıkarlar. Bunlar, santral konumlu, tek, yuvarlak bir çekirdeğe sahip, görevi testosteron üretimi olan hücrelerdir. Testosteron, kolesterolden sentezlenen, sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonudur. Testosteron salgılanması lüteinizan hormon (LH) kontrolündedir. Plazmada testosteronun %65'i androjen bağlayıcı protein olarak adlandırılan bir beta globuline, %33'ü ise albumine bağlı olarak bulunur [18]. Spermatogenez, hipofizden salgılanan folikül stimulan hormon ile LH'nun testis üzerindeki etkileriyle ilişkilidir. LH, Leydig hücrelerine olan etkisiyle normal spermatogenik hücrelerin gelişimi için gerekli testosteron yapımını uyarır. Folikül stimulan hormon (FSH) ise Sertoli hücrelerini etkileyerek adenilat siklazı ve sonuçta siklik adenozin monofosfat artışını uyarır. Böylece androjen bağlayıcı protein sentezi ve salgısı artar. Androjen bağlayıcı protein testosteronu bağlayarak seminifer tübül lümenine taşır. Spermatogenez testosteron ile uyarılır, östrojen ya da progesteronla inhibe edilir [18, 19].

Seminifer Tübüller:

Testisin her bir lobülü birbirleri arasında ilişkileri olan bir-dört kadar seminifer tübül içerir. Bunlar, dışta miyoid hücreleri de içeren bağ dokunun çevrelediği, belirgin bir bazal membran ile interstisyumdan ayrılırlar. Seminifer tübüller yaklaşık 30-70 cm uzunlukta olup, Sertoli hücreleri ile germ hücrelerini içerirler. Erişkin testisindeki Sertoli hücreleri, bölünme yeteneği

olmayan, seminifer túbülün bazal kısmından lümene doğru uzanan destek hücreleridir. Seminifer túbüllerin hücresel yapısının %10-15'ini oluştururlar. Çekirdekleri düzensiz şekilli ve oldukça bükümlüdür. Sertoli hücreleri, belirgin nükleolusları ile germ hücre elemanlarından ayrılır [18].

Puberte çağında Sertoli hücreleri arasında sıkı bağlantı kompleksleri oluşur. Kan testis bariyerini oluşturan bu kompleksler, kandan gelen maddelerin lümen içerisine geçişini önler [18].

Fagositoz kapasiteleri dışında bu hücreler, spermatogenezin düzenlenmesinde rol alan androjen bağlayıcı protein, transferrin, büyüme hormonu, seruloplazmin ve inhibin gibi pek çok maddenin sentezini de yaparlar [18]. Germ hücreleri insanda olgunlaşmasını 64 günde tamamlayan ve çoğalabilen hücrelerdir. Bazal membrana oturan spermatogoniumların bir kısmı (spermatogonium A) kök hücreleri oluştururken, bir kısmı da (spermatogonium B) mitoz ile bölünerek lümene doğru göç ederler ve primer spermatozoonlara dönüşürler. Bunlar mayoz bölünme ile sekonder spermatozoonları oluştururlar. Sekonder spermatozoonlar ikinci bir mayoz bölünme daha geçirerek haploid spermatozoonlara dönüşürler. Haploid spermatozoonlar ise olgunlaşarak, spermatozoonları oluştururlar [20].

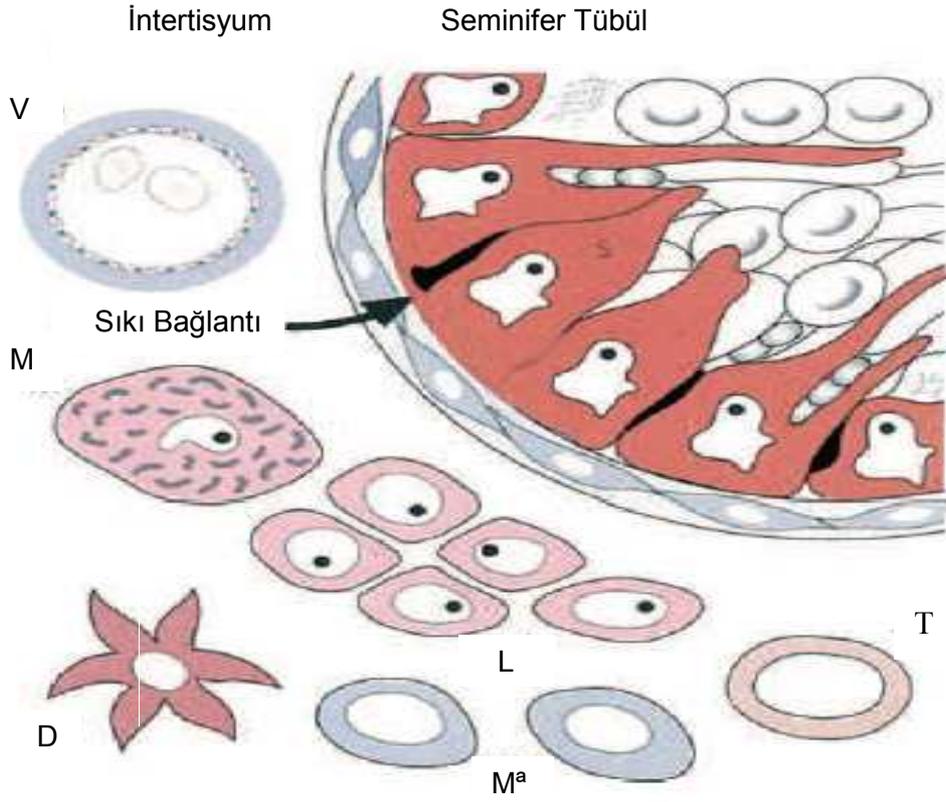
2.3.1. Kan-Testis Bariyeri

Kan-testis bariyeri, sertoli hücrelerinin birbirleriyle kurduğu, benzersiz bir membran ve sitoplazmik özelleşmelerle oluşturduğu özel bir bağlantı kompleksidir. Kan-testis bariyerinin amacı, gelişmekte olan germ hücrelerini immun sistemden korumaktır [21].

Seminifer epitelyum, iki kompartmana ayrılmıştır. İlk kompartman, kan beyin bariyerine yakın olan spermatogony ve genç spermatozoonları içerir. Buraya vasküler kompartmandan madde geçişi serbesttir. İkinci kompartman, bunun üzerinde yer alır ve vasküler sistemden izole edilmiştir. Seminifer epitel hücreleri ve komşuluğundaki sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar, büyük hidrofilik moleküllerin, özellikle proteinlerin intersellüler aralığa geçmesine engel olurlar [21] (Şekil 2.3.1.).

Testisin ekzokrin çıkış kapısı rete testistir. Burada yüzeyi alçak kolumnar epitel ile döşeli birbirleri ile bağlantı gösteren, yarık şeklinde kanallardan oluşan bir ağ vardır. Seminifer tübüllerden rete testise geçiş bölümünde, sertoli-benzeri hücrelerce oluşturulan ve valf etkisi yapan özel bir dizilim vardır. Bu nokta, kan-testis bariyerinin bittiği otoimmün orşitlerin ilk olarak belirgin hale geldiği yerdir. Buradan sonra epididim içerisinde yolculuğuna devam ederek maturasyonunu sağlayan spermatozoa, fertilizasyon kaabiliyetini de kazanmış olur. Kan-epididim bariyeri kan-testis bariyerinden farklıdır. Epididimde moleküllerin permeabilite sınırlaması yaşla beraber azalır. Bu, özellikle epididim korpus bölümünde gözlenir. Seminifer tübül epitelinin aksine, epididim kanalı lümenindeki epitel içinde T lenfositler ve makrofajlar sıklıkla izlenirler. Bu manzara epididimdeki immün çevrenin testistekinden ne kadar farklı olduğunu göstermektedir [21].

Enflamasyon, enfeksiyon ve travma nedeni ile kan-testis bariyerinin bütünlüğünün bozulması germ hücrelerinin kaybı ile sonuçlanabilmektedir [21].



Şekil 2.3.1. Testisin İmmunolojik Komponentleri ve Kan-Testis Bariyeri [21]

Sertoli hücreleri (S), Leyding hücreleri (L), Makrofaj (M^a), Dendritik hücreler (D), Mast hücreleri (M), T hücreleri (T), Kan damarları (V), Sıkı Bağlantılar (Kan-Testis Bariyeri), Seminifer Tübül [21].

İnflamatuvar hücrelerin testiküler fonksiyonda anahtar role sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Testisin germ hücrelerini otoimmüniteden koruyan ayrıcalıklı bir yapısı vardır. Pro ve anti-inflamatuvar sitokinlerin her ikisi de testiküler somatik hücreler ve dolaşımdaki immün hücreler arasında karmaşık etkileşimler içinde bulunarak testisin normal gelişimini ve fonksiyonunu sağlarlar [22]. Aynı sitokinler spermatogenezi ve steroidegenezi bozmadan inflamatuvar yanıtı oluştururlar. Testiküler dokuya karşı otoimmünitenin oluşarak spesifik T lenfositlerinin geçişinin otoimmün orşite neden olduğu deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Testiküler enfeksiyon ve inflamasyon infertilitenin en önemli etiyolojik faktörleri olarak kabul edilmiştir [22, 23, 24]. Normal testislerde çok sayıda immün hücreler bulunmuştur. Bu hücreler intertisyel ve peritübüler kompratmanda bulunurlar [21, 25]. İntertisyel, peritübüler alanda makrofajlara, mast hücrelerine ve lenfositlere rastlanır (Tablo 2.3.1.). Seminifer epitelyumda ise epitel içinde çoğunluğu CD8+T hücrelerinden oluşan T lenfositlerine rastlanır. Leydig hücrelerinden sonra ikinci en sık hücre tipi makrofajlardır [25, 27]. Mast hücreleri intertisyel ve peritübüler dokunun düzenli hücreleridir [25, 26]. Lenfositler göreceli olarak az sayıda olmasına rağmen bölgesel lenf nodları ile bağlantı testiküler lenfatik damarlar yolu ile testise geçerler [25]. Testiste natural killer (NK) hücreleri bulunmaz. Potansiyel profesyonel antijen sunucu hücreler olan dendritik hücreler normal testiste immün yanıtta rol oynamaya devam eder. Normal testiste seminifer tübül içinde immün hücrelere rastlanmaz. Polimorfonükleer lökositler ise rastlanmaz [25, 26, 27].

Tablo 2.3.1. Testiküler Doğal İmmün Hücreler

Makrofaj	++
Mast hücreleri	+
Lenfosit	+
Natural killer hücreleri	-
Dendritik hücreler	+
Granüositler	-

2.4.1. Testisin İmmün Ayrıcalığı

Perinatal dönemde immünolojik yeterlilik kazanılmakta ve bu dönemde vücuttaki tüm antijenler “kendi” olarak algılanmaktadır. Bundan sonra organizmada gözlenen herhangi bir antijen “yabancı” olarak algılanır ve o antijene karşı immünolojik cevap oluşur. Erkek gametinin üretimi ve diferansiasyonu, kendinden çok daha önce maturasyonunu tamamlamış vücut immün sistemine karşı benzersiz bir meydan okuma olarak karşımıza çıkmaktadır. Germ hücrelerinin otoimmün saldırılardan korunuyor olması, testisin kan-testis bariyeri sayesinde immün ayrıcalığı olan bir bölge haline gelmesi ile açıklanmaktadır. Burada bahsedilen ayrıcalık, göreceli, kısmi bir ayrıcalık olup, immün cevabın tamamen ortadan kalkması anlamına gelmemektedir [28].

Son çalışmalar, testisteki immuntoleransın hem fiziksel hem de immünolojik olmak üzere pek çok faktörün birlikte meydana getirdiği karmaşık bir yapı olduğunu ortaya koymaktadır. Puberte ile birlikte erkek germ hücrelerini spermatozoa haline getirecek aktif bir süreç başlamaktadır. Bu süreçte antijenik özelliğe sahip olan hücrelerarası ve yüzey proteinleri sentezlenmektedir. Bu proteinler, vücudun başka bir bölgesine enjekte edildiklerinde güçlü otoimmün reaksiyonlara neden olurken, testiste reaksiyon oluşturmamakta, testis tarafından tolere edilmektedirler [28]. Testis interstisyumuna transplante edilen yabancı dokular, hayatiyetini devam ettirebilmektedirler. Bununla birlikte, testisin viral ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı kendini savunacak normal enflamatuvar yanıt oluşturabilme kabiliyeti de olduğu bilinmektedir. Buradaki denge, çeşitli etkenlerle bozulduğunda testiküler immün cevap antisperm antikorlar (ASA) ve nadiren de epididimoorşit oluşumuna neden olabilmektedir [29]. ASA'lar sperm motilitesine, akrozom reaksiyonuna, servikal mukus penetrasyonuna, zona pellusidaya bağlanmaya ve sperm-oosit bağlanmasına olumsuz olarak etki etmektedirler [30, 31, 32]. Bu antikorlar seminal sıvıda kadınlarda servikal müküs, oviduktal sıvı veya folliküler sıvıda bulunurlar. Kadın ve erkeklerin

serumlarında ve spermatozoa yüzeyine yapışık olarak bulunmaktadırlar [33, 34].

Testisteki immün ayrıcalık mekanizması halen tam olarak anlaşılabilmiş olmaktan çok uzaktır. Bu mekanizmayı anlamaya çalışırken, testisin beden dışında yerleşimli, vücut ısısından daha düşük ısıya sahip, içi genetik yapısı ile vücudun diğer hücrelerinden farklı ve immün sistem tarafından tanınmayan hücrelerle dolu özel bir organ olduğu unutulmamalıdır. Günümüzde, immün sistem, spermatogenez, steroidogenez ve intrinsek testiküler fonksiyonların birbirlerine karmaşık etkileşimler ağı ile bağlı oldukları genel olarak kabul görmektedir. Germ hücrelerinin korunması için immün cevabın baskılanması ile enfeksiyon, travma ve kanser gelişimine karşı immün cevabın aktive edilmesi (Tablo 2.4.1.) arasındaki dengenin bozulması infertilite ile sonuçlanabilmektedir [28]. Testisin immün ayrıcalığı konusunda yapılacak olan yeni çalışmalarla elde edilecek bilgiler ışığında immünolojik kökenli erkek infertilitesi tanı ve tedavisinde yeni kapılar açılması mümkün olacaktır.

Tablo 2.4.1. Testiküler İnflamasyonda Etiyolojik Faktörler

Lokal veya sistemik enfeksiyon
Neoplastik hastalıklar (seminoma, karsinoma-in-situ)
Kimyasal zararlılar
Fiziksel faktörler, travma
Diğer testiküler hastalıklar (konjenital,..)

2.4.1.1. Testiküler İnflamasyonda Hormonal Düzenleme

Testosteron spermatogenezin başlaması ve devamı için hayati öneme sahip bir hormondur. Etkisini Leydig hücreleri, Sertoli hücreleri ve peritübüler hücreler üzerinde yer alan androjen reseptörleri aracılığı ile yapmaktadır [21].

Peritübüler myoid hücreler androjenle regüle edilen bir dizi faktörler sentez eder. Testosteronun proenflamatuvar sitokinleri azalttığı gösterilmiştir.

Testisin immun sistemden ayrıcalığında testosteronun rol oynadığı bilinmektedir ancak, testiküler lökositler üzerine olan anti-enflamatuvar etkilerini nasıl yaptıkları konusu henüz aydınlanmamıştır. Görünen o ki, androjenler, testiküler lökositler üzerinde immunsupresif etkilerini genomik olmayan yollar üzerinden ya da Sertoli, Leydig ve peritübüler hücrelerdeki pro- veya anti-enflamatuvar sitokin miktarı dengesinin ayarlanması şeklinde göstermektedirler [21].

2.4.1.2. Testiküler İnflamasyonda Sitokinlerin Rolü

Pro- ve anti-inflamatuvar sitokinler olan IL-1, IL-6, IL-10, tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) seviyelerinin lokal ve sistemik testiküler enflamasyonda artışı, sertoli hücre kültürlerindeki sıkı bağlantıların bütünlüğünü alt üst ettiği, bunu da kan-testis bariyerinin ihtiva ettiği ilginç komponentlerden birisi olan okludin ekspresyonunda azalma yolu ile yaptıkları gösterilmiştir [35, 36, 37, 38].

2.4.1.3. Testiküler İnflamasyonda Hücrelerin Rolü

Makrofajlar:

Testisteki ayrıcalıkta görev alan bir diğer yapı makrofajlardır. Makrofajlar testiste immün ayrıcalık sağlanmasında ve bunun idamesinde merkezi rol oynarlar. Günümüzde erişkin testisinde belirleyicileri ve salgıladıkları enflamatuvar mediatörler ile birbirlerinden ayırt edilebilen en az iki makrofaj alt tipinin olduğu konusunda gittikçe artan destekleyici bilgiler vardır. Testisteki makrofajlar Leydig, Sertoli, peritübüler hücreler gibi somatik hücreler ve immün hücreler birlikte hareket ederek oluşturdukları ortamda germ hücrelerini otoimmün saldırılardan koruyabilirler. TGF- β ve muhtemelen aktivin A spesifik immün cevapları bastırmakta önemli rol oynamakta, testisin kendi antijenlerine karşı oluşabilecek otoimmün

reaksiyon riskini azaltmakta, sonuçta immün ayrıcalık sağlamaktadırlar [39, 40].

Lenfositler ve Dendritik Hücreler:

Lenfositler interferon- γ ve interleokin-2 gibi immün düzenleyici moleküllerin potansiyel kaynağı olarak hizmet görürler. Dendritik hücreler, T ve B lenfositlerin primer immün cevaplarının başlaması ve yönetilmesinde rol oynamaktadırlar. Dendritik hücreler sadece lenfositleri aktive etmekle kalmazlar, T hücrelerinin antijenlere karşı toleransını artırarak otoagresif immün cevabı azaltırlar [41].

Mast Hücreleri:

Mast hücreleri parazitlere karşı olan alerjik ve immün reaksiyonlarda primer olarak sorumludurlar. Son zamanlarda bu hücrelerin özellikle otoimmün hastalıkların gelişiminde, immün cevabın düzenlenmesinde de belirgin olarak rol aldığı ileri sürülmüştür. Mast hücreleri salgıladıkları bazı potent proenflamatuvar mediatörler (ör: histamin, IL-4, interferon- γ , TNF- α) ve dokularda yaygın olarak bulunabilme özellikleri ile otoimmün cevabın düzenlenmesinde rol oynarlar. In vitro çalışmalar otoreaktif T hücrelerinin mast hücre aktivasyonu yaptığını ortaya koymuştur. İnsan testisinde mast hücreleri interstisyel dokuda bulunmaktadır. Sayıları bebeklik döneminde artarken çocukluk döneminde azalmakta ve pubertede yine artmaktadır. Mast hücrelerince salgılanan triptaz ve diğer proteazlar, histamine, lökotrienler, prostaglandinler ve sitokinler testiküler inflamasyonda rol alırlar [42, 43].

2.4.2. Epididimoorsit

Genellikle püberte veya postpubertal erkek çocuklarında görülen bu inflamatuvar durum, bu yaş grubundaki akut skrotum sebepleri içinde en sık

rastlanan patolojilerdendir. İnsidansı 12 yaş ve sonrasında belirgin olarak yüksektir. Prepubertal çağda oldukça nadir olmakla beraber, özellikle nörojenik mesane, ektopik ureter, hipospadias ve anorektal malformasyon gibi üriner sistem anomalileri olan veya yakın zamanda üriner enstrümantasyon veya kataterizasyon yapılmış çocuklarda daha küçük yaşlarda da karşımıza çıkabilmektedir [44, 45, 46, 47, 48].

Saatlerle günler arasında değişebilen periodlara varabilen, hafif şiddette başlayan skrotal ağrı vardır. Ağrı, minimal skrotal ödemle beraber hastalığın erken evrelerinde epididimde lokalize edilebilir. Sekonder hidrosel gelişebilir. Üretral akıntı olabilse de çocuk yaş grubunda oldukça nadirdir. Ateş, sık idrara çıkma ve dizüri gibi üriner sistem infeksiyonu yakınmaları olabilir. "Prehn" bulgusu olarak da adlandırılan skrotum elevasyonu ile artan ağrı şikayetine sıklıkla rastlansa da epididim için spesifik değildir ve bu yüzden belirgin klinik önemi yoktur. Bu hastalarda idrar tetkiklerinde sıklıkla piyüri nadiren de bakteriüri gösterilebilir. Epididimitten şüphelenildiğinde mutlaka idrar kültürü alınmalıdır. Kremaster refleksi normaldir ama büyük çocuklarda bulunmayabilir. Ne yazık ki epididimit için patognomonik bulgu yoktur. Tanı; öykü, fizik muayene, idrar analizleri, görüntüleme tetkikleri ve vakaların çoğunda cerrahi eksplorasyonla konur. Tedaviye kültür sonucu çıkana dek ampirik antibiyotik verilerek başlanmalıdır. İnflamasyonun derecesini ve süresini kısaltmak için yatak istirahati ve skrotal elevasyon faydalıdır. Antiinflamatuvar ve analjezikler semptomların azaltılmasında yardımcı olur [44, 45, 46, 47, 48].

2.4.3. İnflamasyon

İnflamasyon canlıda dokunun ve mikrosirkülasyonun hasarlayıcı etkene veya enfeksiyona verdiği biyolojik koruyucu bir yanıttır. Organizmayı mikroorganizmalar, yabancı cisimler ve toksinler gibi hasarlayıcı etkenlerden ve hasarlanmanın neden olduğu nekrotik hücrelerden temizlemek temel amacıdır. Ancak inflamasyon yararlı olduğu kadar zarar da verebilir. Aşırıya kaçmış inflamasyon doku hatta organ kaybına neden

olabilir. İnflamasyon vasküler dokularda oluşan bir yanıttır. İnflamasyonun iki temel bileşeni mevcuttur. Bunlar vasküler ve hücresele bileşenlerdir. İki tip inflamasyon bilinmektedir. Bunlar [49]:

- Akut inflamasyon: Hasarlandırıcı etkene karşı oluşan hızlı ve genellikle geçici bir yanıttır.
- Kronik inflamasyon: Hasarlandırıcı etkene karşı oluşan başlangıçtaki doku reaksiyonunu takip eden uzamış bir yanıttır.

2.4.3.1. Akut İnflamasyon

Çeşitli hasarlandırıcı etkenlere karşı oluşan başlangıç yanıtıdır. Hızlı gelişen bir yanıttır [49].

Klinik olarak akut inflamasyon tarihsel beş temel belirtiyile kendini gösterir. İlk dört belirti Romalı ansiklopedici Aulus Celsus (MÖ30 - MS38) tarafından tanımlanmıştır. Son belirti fonksiyon kaybı, Virchow tarafından 19. yüzyılda eklenmiştir. Bunlar [49]:

- Isı artışı
- Kızanklık, eritem
- Şişme
- Ağrı
- Fonksiyon kaybı

Akut inflamasyon çeşitli etkenlerle oluşabilir bunlar şu şekilde sıralanabilir [49]:

- Mikrobiyal etkenler (piyojenik bakteriler, virüsler, parazitler)
- Otoimmün reaksiyonlar
- Fiziksel ve kimyasal ajanlar (ultraviyole, travma, koroziv maddeler, asitler)
- Doku nekrozu
- Yabancı cisimler

Akut inflamasyonun temel öğeleri şunlardır [49]:

- **Mikrosirkulasyondaki değişiklikler:** Hasarlanan ya da infeksiyonun bulunduğu alanda kan akımının artması sonucunda lökositlerin ve serum moleküllerinin bu alana ulaşması.

- **Damar geçirgenliğindeki değişiklikler:** Kapiller geçirgenliğin artmasına bağlı olarak infeksiyonu kontrol etmek için serum proteinlerinin alana sızması.

- **Hücre göçü:** Dokuya lökosit göçünün (migrasyon) artması

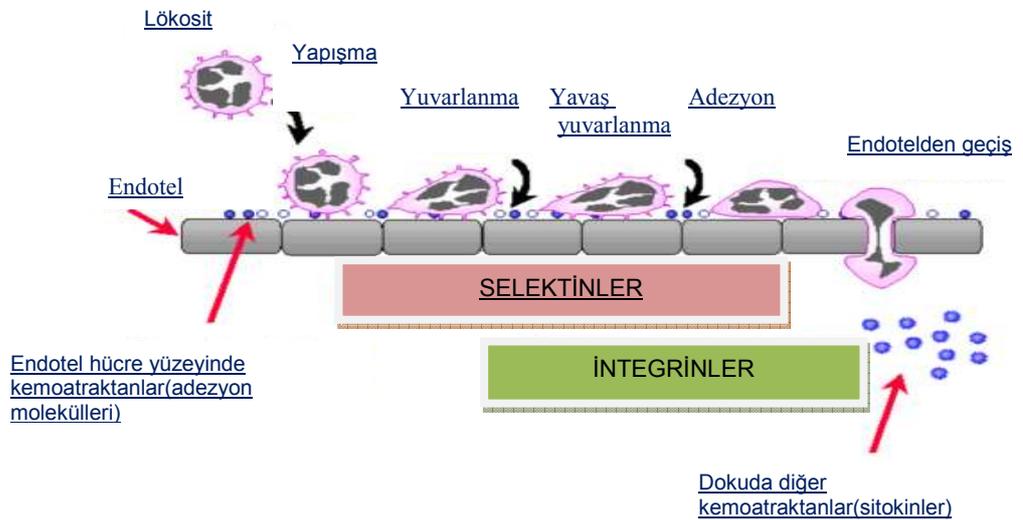
Inflamasyon sırasında vasküler olaylar:

- Arteriyollerde geçici vazokonstrüksiyon
- Prekapiller arteriyollerde vazodilatasyon
- Vasküler geçirgenlik (permabilite) artışı

Inflamasyonda ilk olay arteriyal kontrüksiyondur ancak bu geçici ve düzensizdir. Arteriyal vazokontrüksiyonun inflamasyondaki önemi çok azdır. Bu vazokontrüksiyon sonrasında vazodilatasyon ortaya çıkar. Sonuç olarak bu alana kan akımı artar. Deneysel çalışmalarda inflamasyon alanına 10 kata kadar fazla oranda kan akımı olabileceği gösterilmiştir. Vazodilatasyonla birlikte inflamasyon alanında ayrıca kan dolaşımı da yavaşlar (staz) bu da iltihabi hücrelerin dokuya göçünü kolaylaştırır. İnflamasyon alanına hangi hücrenin hakim olduğu, lezyonun zamanına, dokunun türüne ve antijenik uyarının niteliğine bağlı olarak değişmekle birlikte infeksiyöz ajanlarla oluşan akut inflamasyonda ana hücre tipi genellikle nötrofillerdir. Nötrofiller birkaç gün hakim hücre olarak varlıklarını sürdürür ancak zamanla mononükleer fagositler ve aktive lenfositler de tabloya katılır. CD8⁺ T hücreleri ve az sayıda B hücresi de daha sonra inflamasyona katılır. Eğer infeksiyon etkeni ortadan kaldırılamazsa CD4⁺ T hücreleri ve mononükleer fagositler tabloya hakim olur. Paraziter ajanlara yönelik inflamasyonlara sıklıkla eozinofiller de katılır. Nötrofillerin ve diğer inflamatuvar hücrelerin dokuda toplanması inflamasyonun ana özelliklerinden biridir. Bu toplanma aşama aşama gerçekleşir ve lökosit hareketleri olarak adlandırılır. Lökositler normalde hemodinamik dengelere bağlı olarak kan akımının merkezi aksında (aksial) kolculuk ederler, ancak kan akımının yavaşlamasıyla endotele doğru yaklaşırlar.

Bu olaya lökosit marginasyonu adı verilir. Ancak bu tek başına lökosit endotel yakınlaşması için yeterli değildir ve bir çok aktif moleküler mekanizma özellikle adezyon molekülleri bu olayda aktif rol alır [49, 50]. Endotel-lökosit ilişkileri dört temel aşamada gerçekleşir (Şekil 2.4.3.1) [51].

- Endotelin aktivasyonu
- Yuvarlanma (rolling)
- Sıkı bağlanma (adezyon)
- Transmigrasyon (endotelden geçiş)



Şekil 2.4.3.1. Endotel-Lökosit Etkileşimi [51]

Lökositlerin damar duvarına yapışması ve göçü, lökosit yüzeyinde ve endotelde salgılanan adezyon molekülleriyle ve sitokinlerle (kemoatraktanlar) kontrol edilir. Dokuda bir hasar ortaya çıktığında mononükleer fagositler TNF- α ve IL-1 gibi çeşitli sitokinleri salgırlar. Bu sitokinler endotelde E-selektin (CD62E) sentezini ve ekspresyonunu artırır. Nötrofil göçü için E-selektin tarafından nötrofillerin yavaşatılmasının (rolling-yuvarlanma) önemli bir faktör olduğu

düşünülmektedir. P-selektin (CD62P) de bu işte görev alan diğer bir moleküldür. P-selektin, E-selektinden farklı olarak endotel sitoplazmasında Weibel-Palade cisimleri içerisinde hazır olarak bulunur ve endotel aktive olduğunda veya hasarlandığında hücre yüzeyinde kendini gösterir. Onkostatin M, IL-4, IL-13 P selektin sentezini artırıcı etki yapar. E- ve P-selektin plateletleri ve lökositleri yavaşlatır. P-selektin hazır olarak bulunduğu için birkaç dakikada hücre yüzeyinde eksprese edilir. Bu yüzden erken dönem lökosit toplanmasında önemli bir yere sahiptir. L-selektin (CD62L) lenfositlerin ve diğer lökositlerin yüzeyinde eksprese edilen diğer bir moleküldür. Özellikle lenfositlerin lenf nodlarına yerleşmesinde görev alır (homing) [48, 49, 50, 51].

2.3.2. İnfeksiyonlara Karşı Konağın Savunmasında Lökosit Adezyon Moleküllerinin Rolü

Dokuda oluşan enfeksiyona karşı korunmada görev artık doku makrofajları, mast hücreleri ve dolaşımdan infektif alana aldığı uyarılar sonucu göç eden lökositleridir. İnflamatuar yanıt ilk olarak polimorfonükleer lökositler (PMN) daha sonra mononükleer fagositler ve lenfositler tarafından verilir. İnflamatuar yanıt çok iyi düzenlenmiş kompleks bir olay olmakla birlikte iki kenarı keskin bıçak gibidir. Lökosit trafiğinin bozulması veya inflammatuar yanıtta başarısız olması durumunda, enfeksiyonun kontrol edilememesi veya lökositlere bağlı aşırı doku yıkımı olacaktır. Birçok ciddi enfeksiyonlarda dolaşımdan dokuya aşırı lökosit geçişi, enfeksiyonlara karşı konağın korunmasını sağlarken, lökosit aktivasyonu ve mikroorganizma fagositozu sonucu ortaya çıkan radikaller ve parçalanma ürünleri hem lökosit trafiğini hızlandırmakta, hem de doku yıkımını artırmaktadır. Bunun sonucunda fizyolojik dengeler bozularak şok, dissemine intravasküler koagülasyon (DIC), adult respiratuar distres sendromu (ARDS) gibi fatal klinik tablolar ortaya çıkmaktadır. Klinik açıdan bakıldığında inflammatuar yanıt, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde en önemli terapötik hedefdir [51]

Nötrofilin Damar Dışına Çıkışı (Ekstravazasyon):

PMN'nin inflamatuvar alana geçişindeki temel olay, damar endotel hücrelerinden (EH) migrasyonudur. PMN'nin dolaşımdan dokuya geçişi, başlıca postkapiller venüller veya kapiller yataktan olmaktadır. Bu migrasyon PMN ve EH yüzeyindeki spesifik hücre adezyon molekülleriyle kontrol edilmektedir [51].

PMN ve EH arasındaki ilk ilişki selektin/ligand etkileşimiyle olmaktadır. İnflamatuvar alandaki EH'nin proinflamatuvar sitokinlerle uyarılmasıyla PMN ve EH'deki selektinler ve ligandlar eksprese olurlar. Selektinlerin ligandları ile bağlanması sonucu PMN önce yavaşlayıp o bölgede yuvarlanır ve bunun sonucu zayıf adezyon oluşur. Adezyonun bundan sonraki aşamasında, bir yandan uyarılmış EH'den salınan kemotaktanlar PMN yüzeyinde eksprese olan P2 integrinin ekspresyonunu ve karşıt ligandı olan interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1, CD54)'e ilgisini artırırken, bir yandan da sitokinler EH yüzeyindeki ICAM-1 ekspresyonunu artırır. Bunun sonucu önce kuvvetli adezyon daha sonra da PMN'nin endotel matriks üzerinde çukurlaşması ve yassılaşılarak yayılmasına neden olur. Daha sonra yapısal olarak PMN yüzeyinde ve EH'lerin birleşme bölgelerinde bulunan trombosit endotelial hücre adezyon molekülü-1 (PECAM-1, CD31)'in homofilik bağlanması sonucu PMN'ler EH birleşkeden kayarak transendotelial migrasyonlarını (TEM) tamamlar [51, 52].

Selektinler:

PMN'lerin endotelial yüzeyde yuvarlanarak adezyonu ilk defa 1839'da Wagner tarafından tanımlanmıştır. Selektinler, lökosit ve EH'lerde eksprese olan Ca^{++} bağımlı tip transmembran lektinlerdir. L-selektin (CD62L), E-selektin (CD62E) ve P-selektin (CD62P) olmak üzere 3 üyesi vardır. L-selektin lökositlerde, E- ve P-selektin ise, EH'lerde bulunurlar. Bütün bu selektinler ve ligandlarının PMN-EH ilişkisindeki rollerinin PMN'nin EH üzerinde yuvarlanması ve yavaşlamasını sağladığı in vivo ve in vitro

çalışmalarda gösterilmiştir . Dokudan dokuya veya cinse göre ekspresyon farkı göstermekte olan selektinlerin ve/veya ligandlarının aynı zamanda ekspresyonunun farklı kinetiği nedeniyle, her bir selektin, inflamasyon süreci içinde değişik zamanlarda rol oynamaktadırlar [53]

L-selektin yapısal olarak bütün lökositlerde eksprese olurlar. İnfektif ajan ile aktive olmuş EH üzerinde eksprese olan karşıt ligandı sayesinde EH'yi tanır ve adezyonun ilk basamağı olan PMN'nin yavaşlamasını sağlar. PMN'nin kemokin ve forobol esterleri ile uyarılması sonucu hızla PMN yüzeyinden kaybolur. Birçok normal insan serumunda yüksek seviyelerde solübl L-selektin tespit edilmiştir [54]. Bununla birlikte bazı hastalıklarda yüksek seviyelerde bulunabildiği gibi bazı hastalıklarda da düşük seviyelerde bulunabilmektedir. Yapılan çalışmalar sonucu, L-selektinin PMN yüzeyinde monoklonal antikolar ile bloke edilmesi sonucu, intraselüler kalsiyum ve süperoksid iyonlarında ve adezyonun daha sonraki evrelerinde rolü olan yüzey P 2 integrin ekspresyonunda hızla artış olduğu gösterilmiştir [55].

E-selektinler aktive olmamış EH'de bulunmazlar. EH'nin doku hasarı, inflamasyon ve immün reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan sitokinlerle (IL-1, TNF-a, INF-y) veya bakteriyel lipopolisakarid (LPS)'lerle uyarılması ile de novo protein sentezi sonucu eksprese olurlar. E-selektin ekspresyonunda birçok immün ve inflamatuvar cevapta yer alan NF-kB'nin aktivasyonu önemli rol oynamaktadır [56,57]. E-selektin ekspresyonu, transkripsiyon seviyesinde uyarılma sonucu hızlanmaktadır. Transkripsiyon (aktinomisin D) veya translasyon (sikloheksimid) inhibitörleri ve "transforming" büyüme faktörü P, E-selektin ekspresyonunu inhibe etmektedirler [58, 59]. E-selektinin EH yüzeyindeki seviyesi 3-6 saat sonra pik yapıp 24-48 saat içinde normale döner [60, 61]. Bununla beraber; E-selektinin gecikmiş hipersensitivite reaksiyonlarında özellikle deride kronik olarak eksprese olabildiği de gözlenmiştir [62, 63]. E-selektinin aktive olmuş EH yüzeyinden kayboluşu birçok faktörün kombinasyonu sonucu gerçekleşmektedir. E-selektin gen transkripsiyonu uyarılmadan 6-9 saat sonra hızla azalmakta [57] ve lizozom içine internalize olarak degrade olmaktadır [63, 64]. Bunlara ek olarak E-selektin mRNA'sının da yarılanma ömrünün kısa olması E-selektinin hızla

kaybolmasına neden olmaktadır [65]. PMN'deki karşıt bağı ile direkt olarak bağlanan E-selektin, PMN yüzeyindeki integrin moleküllerinin aktivasyonunu sağlamaktadır [66]. Bu sayede dolaylı yoldan PMN-EH arasındaki kuvvetli adezyona da yardımcı olmaktadır.

P-selektinler birçok EH tarafından yapısal olarak sentez edilirler, fakat plazma membranında eksprese edilmezler. Endotelin sekretuar bölümleri olan Weibel-Palade cisimciklerinde depolanmış olarak bulunurlar [67, 68]. Trombin ve histamin gibi fizyolojik inflamatuvar uyarılar sonrasında sekretuar bölümden hızla plazma membranına mobilize olarak burada eksprese olurlar [67, 69]. P-selektinin EH'nin yüzeyinde bulunması dolaşımdaki PMN'lerin EH'yi algılayabileceği ilk ve en önemli yanıtlardan bir tanesidir. Endotelin uyarılmasından 5 dakika sonra ekspresyonu pik yaparken 20 dakikada hemen hiç yok denecek kadar azdır [67, 69]. PMN'lerin P-selektin ile bağlanmaları için sadece ekstraselüler kalsiyuma gereksinimleri vardır [70]. P-selektinlerin bağlandıkları PMN'de kendi başlarına sinyal oluşturma yetenekleri yoktur. Ancak endotelle ilişkili trombosit aktive eden faktör (PAF) ile birlikte P2 integrinlerin ekspresyonunu ve EH'deki karşıt ligandlarına (ICAM-1, ICAM-2) bağlanma afinitesini artırır [71].

Her üç selektinin bilinen ligandları karbonhidrattan zengin müsin tabiatındadır. Ligandlarda bulunan karbonhidratlar yoğun siyalik asid, fukoz ve/veya sülfat tabiatındadır. Siyalik asid ve fruktoz tabiatındaki siyalil-Lewis^x (SLe^x, CD15s) her üç selektin için bilinen en önemli ligandır. E-selektin dışındaki P- ve L-selektinlerin ligandlarına bağlanma için sülfat gereksinimleri vardır [72-76].

Hücre Adezyon Moleküllerinin Ölçümü:

Dolaşımdaki hücrelerin yüzeyinde iseler, spesifik işaretlenmiş antikolar kullanılarak flow sitometri ile ölçülebilmektedirler. [12]

Hücre yüzeyinden ayrıldıktan sonra, bazı hücre adezyon molekülleri, özellikle de Ig süperailisi üyeleri, çözünür forma geçerler ve ELISA ile

ölçülebilirler. Hücre adezyon moleküllerinin dokuda ekspresyonları immünohistokimyasal tekniklerle tanımlanabilmektedir[77, 78, 79]

Bu moleküllerin m-RNA'ları PCR veya in situ hibridizasyon yöntemi ile tanımlanabilmektedir. [12]

3. GEREÇ – YÖNTEM

3.1. Hayvanlar ve Yemleri

Deneysel çalışma için Hıfzıssıhha laboratuvarından elde edilen, ağırlıkları 100-150 gr arasında değişen, yetişkin, Wistar-albino tip, sağlıklı 36 erkek sıçan kullanıldı. Deneylelerden en az bir hafta önce laboratuvara getirilen sıçanlar uygun kafeslerde ve 23 ± 2 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsünde takip edildi. Özel olarak üretilmiş pelet yem ile beslenen sıçanların istedikleri kadar su içmelerine izin verildi. Deneysel çalışmalar Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.2. Çalışma Grupları

Çalışmaya dahil edilen 36 adet yetişkin sıçan her grupta 6 adet olmak üzere 6 gruba ayrıldı. İşlemler steril olmayan ancak temiz ve lokal asepsi ve antisepsi koşullarının sağlandığı bir ortamda gerçekleştirildi. Sıçanlara uygulanacak işlemler öncesinde 60mg/kg Ketamin HCl (Ketalar®, Eczacıbaşı Lambert, İstanbul, Türkiye) intraperitoneal enjeksiyonla verilerek anestezi sağlandı. Kontrol grubunda (KG) işlem yapılmadan serum örnekleri alınıp sonrasında her iki testisleri çıkarılırken, sham grubunda (SG) intratestiküler 1 ml SF enjeksiyonu yapıldı. Orşit modeli (OG) sağ testise 0.1 ml 10^6 cfu/ml E.Coli (0:6 strain) ve 1 ml SF enjekte edilerek elde edildi. Antimikrobiyal tedavi grubuna (AG) orşit yukarıda tarif edilen yöntemle oluşturulduktan 24 saat sonra siprofloksasin (50 mg/kg/gün, po, Bayer Schering Pharma, Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye) gavaj yolu ile verildi. P/E-selektin blokaj grubuna (PESG) P/E-selektin antikoru (100 microrg-mixture,iv,BD Pharmingen TM Purified Rat Anti-MouseCD62P, BD Biosciences, USA; anti U1 snRNP A/B", Acris GmbH, Germany), orşit oluşturulduktan 24 saat sonra yapıldı. Son olarak tedavi grubunda (TG) orşit oluşturulduktan 24 saat sonrası hem siprofloksasin (50mg/kg/gün) hem de

P/E-selektin antikor (100 microrg-mixture) verildi. Antibiyotik verilen gruplarda tedaviye 14 gün devam edilip 0. ve 14. günlerde antisperm antikor (ASA), P-selektin ve E-selektin için serum örneği alındı. Spermatogenez ve testiküler hasarı değerlendirilmek üzere 14. günün sonunda sağ ve sol testisler çıkarıldı. Doku örnekleri elde edildikten sonra sıçanlar abdominal aortadan kanatılarak sakrifiye edildi.

3.3. Biyokimyasal İnceleme Metodu

Deneylerde 0. ve 14. günde elde edilen serum örneklerinden ASA, P-selektin ve E-selektin düzeyleri aşağıda tarif edilen yöntemlerle incelendi.

3.3.1. ELİSA Yöntemi ile ASA, P-Selektin, E-Selektin Serum Değerleri Ölçümü

Toplanan kan örneklerinden elde edilen serumlarda ELİSA yöntemi ile spektrofotometrik olarak kayıt edilerek ASA [78], P-selektin [77] ve E-selektin [79] değerleri ölçülmüştür.

3.4. Histopatolojik inceleme

%10 Formalin ile 24 saat fikse edilen dokular doku takip işlemleri sonrasında parafin bloklara gömülmüştür. Mikrotom ile 5µm ile kesitler yapılmıştır. Hematoksilen-eozin boyası ile boyanıp ışık mikroskopu altında incelenmiştir.

Testiküler hasarı değerlendirmek için Cosentino skorlaması kullanılmıştır. Cosentino skorlaması, testiküler hasarı 1-4 arasında aşağıdaki şekilde değerlendirir [80] .

Evre 1: Düzenli germinal hücrelerin izlendiği testiküler yapı

Evre 2: Yapışık seminifer tübüller ve düzensiz germinal hücreler

Evre 3: Düzensiz seminifer tübüller ve normal görünümde olmayan germinal hücreler

Evre 4: Nekrozun izlendiği seminifer tübüller ve germinal hücreler

Johnsen skoru, spermatogenezisi değerlendirmek için kullanılan bir skorlama sistemidir [81]. Seminifer tübülüste spermatojenik hücrelerin tiplerinin varlığına ve yokluğuna göre her bir seminifer tübülüs için skor verilerek bunların toplamı izlenen seminifer tübülüs sayısına bölünerek skor elde edilir.

10: Germinal epiteli çok sıralı, çok sayıda spermatozoa ve merkezde açık lümen içeren tübüller var.

9: Germinal epiteli disorganize, lümeneye doğru yığılma, spermatozoa var.

8: Germinal epiteli çok sıralı ancak lümeneye 10'dan az spermatozoa var.

7. Spermatozoa yok, çok sayıda spermatid var.

6. Spermatozoa yok, spermatid 10'dan az.

5. Spermatozoa yok, spermatid yok, spermatosit var.

4. Spermatozoa yok, spermatid yok, spermatid 5'ten az.

3. Germ hücre olarak sadece spermatogonia var

2. Germ hücresi yok, sadece sertli hücresi var.

1. Seminifer tübülüs içinde hücre yok.

Ayrıca, inflamasyon hafif, orta ve şiddetli olarak derecelendirilmiştir.

3.5. İstatiksel Çalışma Metodu

Çalışmada elde edilen veriler Windows SPSS 16 bilgisayar programında analiz edildi. Değerler, "Ortalama \pm standart sapma (SD)" veya "Ortanca (minimum-maksimum)" olarak verildi. Verilerin dağılımına göre bağımsız gruplar arası karşılaştırmalarda nonparametrik testler kullanılarak grup karşılaştırmaları yapıldı. Gruplar kendi içlerinde 0. ve 14. gün karşılaştırmaları Wilcoxon signed ranked testi ile yapıldı. Grup

karşılaştırmaları Kruskal Wallis non parametrik testi kullanıldı. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ değerler anlamlı kabul edildi..

3.6. Etik Kurul İzni

Bu çalışma, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 26.02.2009 tarih ve 09/05/65 sayılı toplantı kararıyla hayvan deneyi yerel etik kurul onayını almıştır.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal İnceleme

A. Grupların Kendi İçinde 0. ve 14. Gündeki Biyokimyasal Değerlerinin Karşılaştırılması

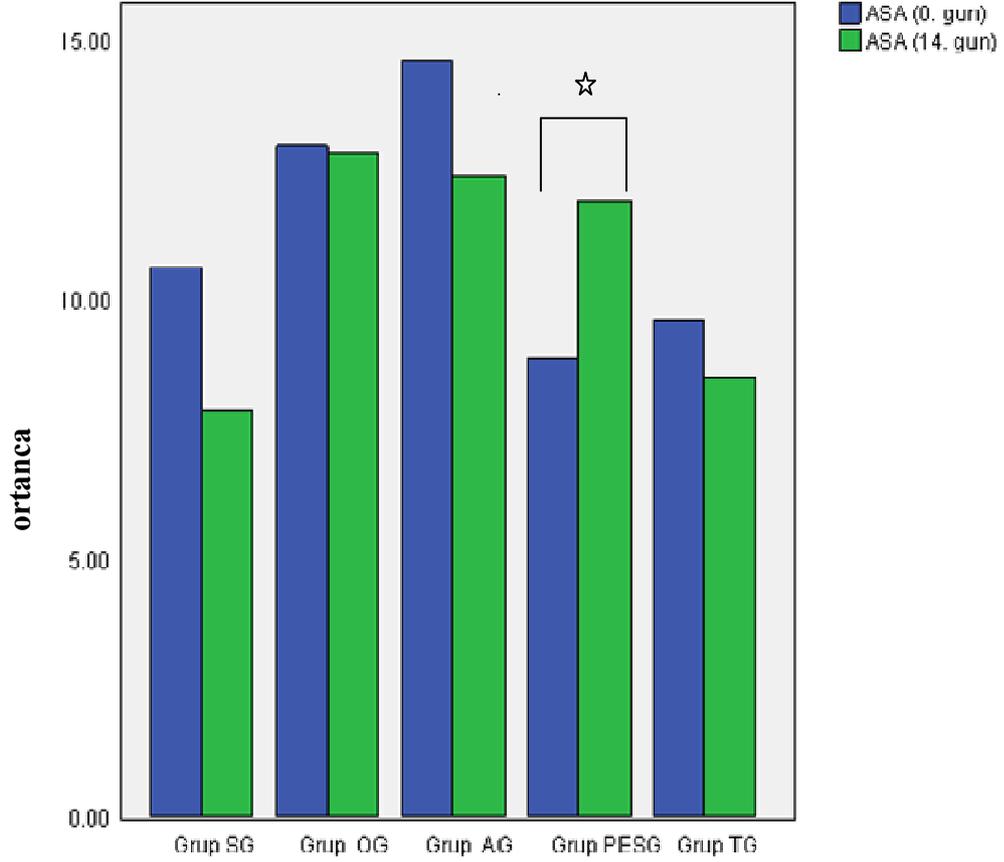
SG'da 14. gün ASA ve E-selektin değeri 0. gün değerlerine göre azaldı. OG'da 14. gün P/E-selektin değerleri 0. gün değerine göre azaldı. AG'da 14. gün P-selektin değeri 0. gün değerine göre azaldı. TG'da 14. gün E-selektin değeri 0. gün değerine göre azaldı.

Tablo 4.1.1. Deney Gruplarında 0. ve 14. Günlerde ASA, P-Selektin, E-Selektin Düzeylerinin Ortanca Değerleri ve Grupların Kendi İçinde Karşılaştırılması

Gruplar	0. GÜN			14. GÜN		
	ASA	P-SELEKTİN	E-SELEKTİN	ASA	P-SELEKTİN	E-SELEKTİN
KG	15 (13-16)	0.9 (0.1-2.9)	82.0 (64.4-105.1)	-	-	-
SG	10.6* (8.8-12.3)	0.7 (0.1-3.9)	153.3# (110.2 ±184.9)	7.9* (6.3 ±9.3)	0.4 (0.06 ±1.96)	107.0# (87.6 ±121.0)
OG	12.9 (9.0-97.1)	3.4¥ (0.1-5.5)	161.4□- (103.7 ±198.6)	12.8 (9.3-15.1)	0.1¥ (0.01-0.06)	115.3□ (69.8-122.3)
AG	14.6 (12.6-17.2)	4.5¥ (1.0-11.2)	116.5 (65.0-155.4)	12.4 (8.7-16.3)	0.06¥ (0.06-2.9)	117.4 (77.5-245.9)
PESG	8.8 (7.6-17.8)	0.4 (0.1-3.4)	177.7 (148.7-191.1)	11.9 (7.5-20.3)	0.8 (0.06-17.6)	96.5 (74.8-243.2)
TG	9.6 (7.5-11.0)	0.4 (0.1-11.2)	136.4‡ (130.8-208.9)	8.5 (6.7-13.3)	0.8 (0.06-9.1)	86.9‡ (66.6-110.4)

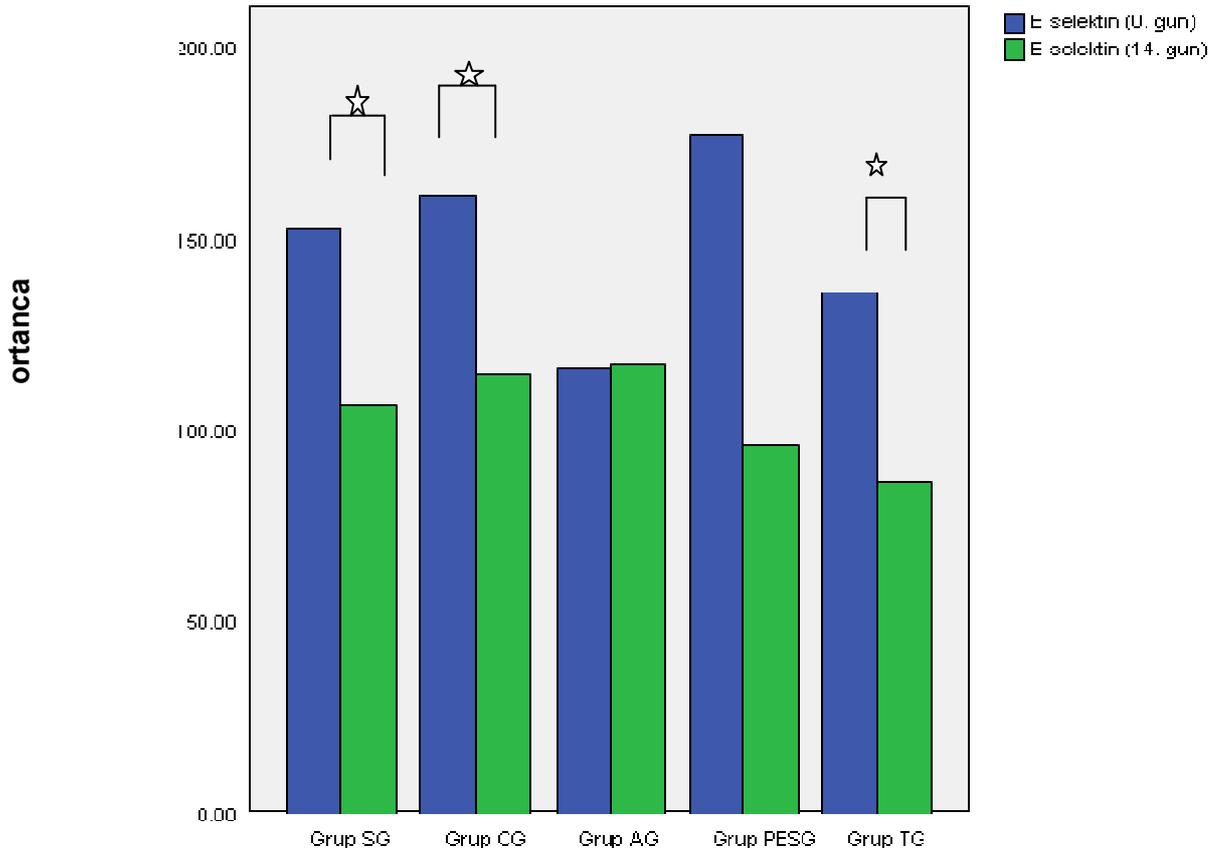
*#¥□¥‡ p<0.05

Tüm gruplarda 0. güne göre 14. gün ASA değerlerinde azalma olmaktadır. Ancak, PESG grubunda artış olarak izlenmekte olup, ortaya çıkan bu fark, istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$) (Şekil 4.1.1.).



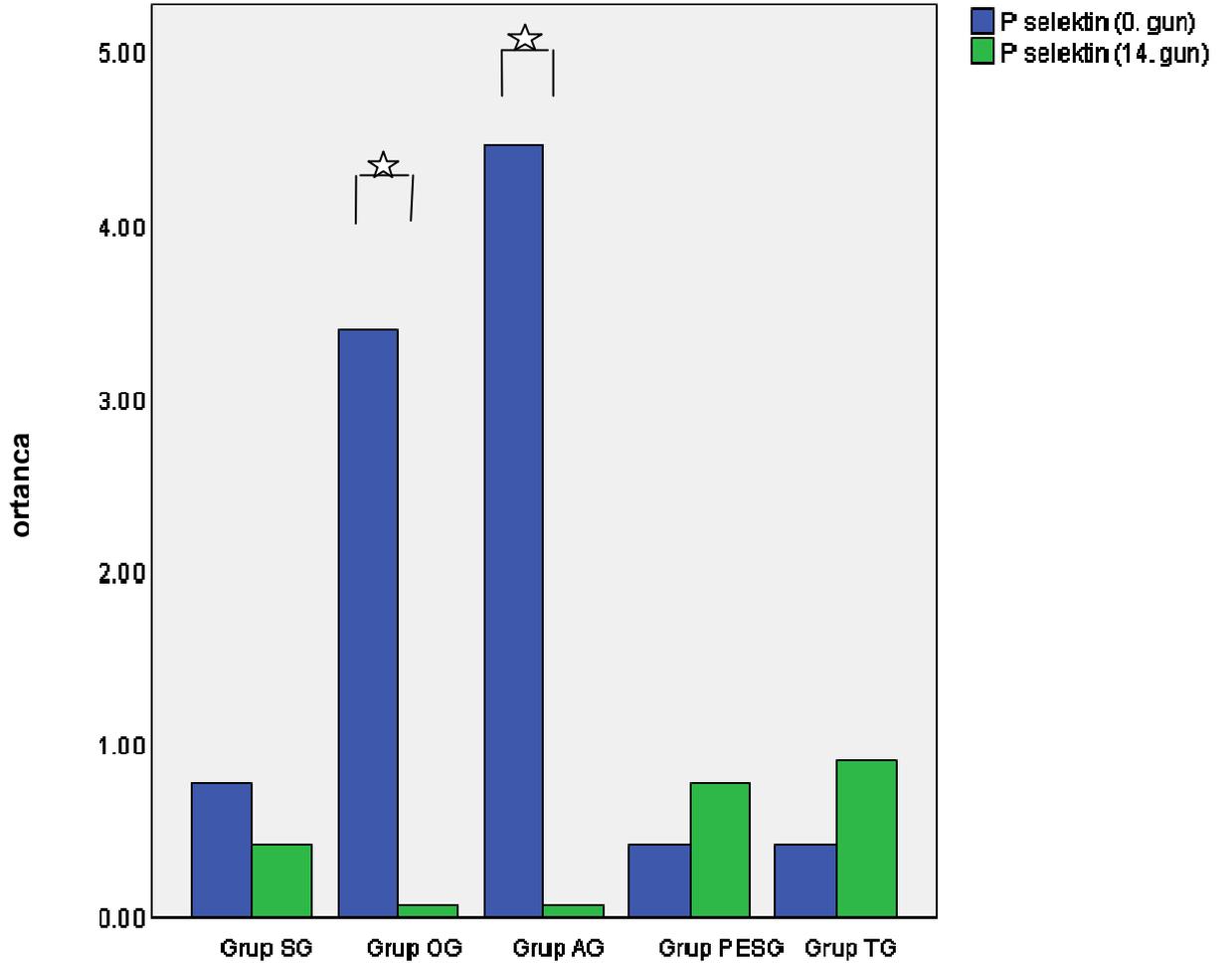
Şekil 4.1.1. Grupların Kendi İçlerinde 0. ve 14. Günlerdeki ASA Ortanca Değerlerinin Değişim Farkları * $p>0.05$

AG grubunda 0. ve 14. gün E-selektin değerleri arasında fark saptanmazken ($p>0.05$), diğer grupların 14. gün E-selektin değerleri, 0. güne göre azaldı. Bu azalma, SG, OG ve TG'de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuşken ($p<0.05$), PESG'da gözlenen azalma istatistiksel anlamlı bulunmadı ($p>0.05$) (Şekil 4.1.2.).



Şekil 4.1.2. Grupların Kendi İçlerinde 0. ve 14. Günlerdeki E-Selektin Ortanca Değerlerinin Değişim Farkları * $p<0.05$

OG ve AG gruplarında 14. gün P-selektin değerleri, 0. güne göre anlamlı azaldı ($p < 0.05$). PESG ve TG gruplarının 14. gün P-selektin değerlerinde 0. güne göre artış gözlenmekle beraber istatistiksel fark bulunamadı ($p > 0.05$) (Şekil 4.1.3.).



Şekil 4.1.3. Grupların Kendi İçlerinde 0. ve 14. Günlerdeki P-Selektin Ortanca Değerlerinin Değişim Farkları * $p < 0.05$

B. Grupların Biyokimyasal Değerler Açısından Gruplar Arasında Karşılaştırılması

Grupların 0. ve 14. gün biyokimyasal parametreleri karşılaştırıldığında ASA değerleri bakımından 0. günde SG ile OG ve PESG arasında fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). 0. günde SG'na oranla AG'da artış ve TG'da azalma bulunmuştur ($p<0.05$). 0. günde OG ile AG, PESG ve TG arasında fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). 0. günde AG ve PESG grupları arasında fark bulunmamıştır. 0. gün ASA değerleri AG'na oranla TG'da azalma bulunmuştur ($p<0.05$). 0. gün ASA değerleri bakımından PESG ve TG grupları arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.1.1., Tablo 4.1.2.).

14. günde yapılan ölçümlerde SG grubuna oranla OG, AG, PESG gruplarında ASA değerlerinde istatistiksel anlamlı artış saptanmıştır ($p<0.05$). 14. gün ASA değeri bakımından SG ve TG grupları arasında fark bulunmamıştır ($p<0.05$, $p<0.01$).

14. günde yapılan ölçümlerde ASA değerlerinde OG ile AG, PESG gruplarında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır. ($p>0.05$) 14. gün ASA değeri OG grubuna oranla TG grubunda azalmıştır ($p<0.05$). 14. gün ASA değerleri bakımından AG ve PESG grupları arasında fark bulunmamıştır.

14. gün yapılan ölçümlerde AG grubuna oranla TG grubunda ASA değeri anlamlı azalmıştır. ($p<0.05$) 14. gün ASA değerleri bakımından PESG ve TG grupları arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.1.1., Tablo 4.1.2.).

P-selektin değerleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında SG ile OG, AG, PESG ve TG grupları arasında 0. gün değerleri arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$). P-selektin değerlerinde 0. günde OG ile AG ve TG grupları arasında fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). 0. gün P-selektin değerlerinde OG'da PESG'na oranla artış bulunmuştur ($p<0.05$). 0. gün P-selektin değerleri bakımından AG'da PESG'na oranla artış bulunmuştur ($p<0.05$). AG ve TG grupları arasında 0. gün değerleri arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$). 0. gün P-selektin değerleri bakımından PESG ve TG grupları arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.1.1., Tablo 4.1.2.).

14. gün P-selektin değerlerinde SG grubuna oranla OG grubunda azalma bulunmuştur ($p < 0.05$). SG ile AG, PSEG ve TG grupları arasında 14. gün P-Selektin değerleri arasında fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). 14. günde yapılan ölçümlerde OG ve AG grupları arasında P-selektin değerlerinde istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). 14. günde OG grubuna oranla PESG ve TG gruplarında P-selektin değerlerinde artış saptanmıştır ($p < 0.05$). 14. gün yapılan ölçümlerde AG ile PESG ve TG grupları arasında P-selektin değerleri arasında fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). 14. gün P-selektin değerleri bakımından PESG ve TG grupları arasında fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 4.1.1., Tablo 4.1.2.).

Gruplar E-selektin değerleri bakımından karşılaştırıldığında 0. günde SG ile OG ve AG arasında fark bulunmamaktadır ($p > 0.05$). SG'na oranla PESG'da artış ve TG'da azalma bulunmuştur ($p < 0.05$). E-selektin değerleri bakımından 0. günde OG'na oranla PESG'da artış ve AG ve TG gruplarında azalma bulunmuştur ($p < 0.05$). 0. gün E-selektin değerlerinde AG'da PESG ve TG'na oranla azalma bulunmuştur ($p > 0.05$). 0. gün E-selektin değerlerinde PESG ve TG grupları arasında fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 4.1.1., Tablo 4.1.2.).

14. günde yapılan ölçümlerde SG grubuna oranla OG, AG, PESG ve TG gruplarında E-Selektin değerleri bakımından fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). 14. günde yapılan ölçümlerde E-selektin değerlerinde OG grubu ile AG, PESG ve TG gruplarında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). 14. gün E-selektin değerleri bakımından AG ile PESG ve TG grupları arasında fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). 14. gün E-selektin değerlerinde PESG ve TG grupları arasında fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 4.1.1., Tablo 4.1.2.).

Tablo 4.1.2. ASA, E-Selektin, P-Selektin Düzeylerinin 0. ve 14. Günde Gruplar Arası Karşılaştırılması

Gruplar	0. GÜN			14. GÜN		
	ASA	P-SELEKTİN	E- SELEKTİN	ASA	P-SELEKTİN	E-SELEKTİN
KG-SG	0,004**	1,000	0,004**	-	-	-
KG-OG	0,020*	0,184	0,005**	0,005**	0,020*	0,575
KG-AG	0,015*	0,053	0,003**	0,007**	0,046*	0,823
KG-PESG	0,045*	0,044*	0,001**	0,016*	0,078	0,841
KG-TG	0,010**	0,072	0,001**	0,006**	0,081	0,293
SG-OG	0,127	0,147	1,000	0,005**	0,020*	0,575
SG-AG	0,025*	0,107	0,052	0,007**	0,21	0,74
SG-PESG	0,081	0,052	0,024*	0,02*	1,00	0,63
SG-TG	0,035*	0,075	0,035*	0,52*	0,62	0,10
OG-AG	0,575	0,378	0,037*	1,000	0,176	0,522
OG-PESG	0,302	0,048*	0,014*	0,93	0,045*	0,87
OG-TG	0,057	0,060	0,024*	0,01**	0,02*	0,06
AG-PESG	0,200	0,025*	0,006**	0,873	0,293	0,337
AG-TG	0,044*	0,054	0,014*	0,02*	0,15	0,07
PESG-TG	1,000	1,000	0,109	0,078	0,738	0,262

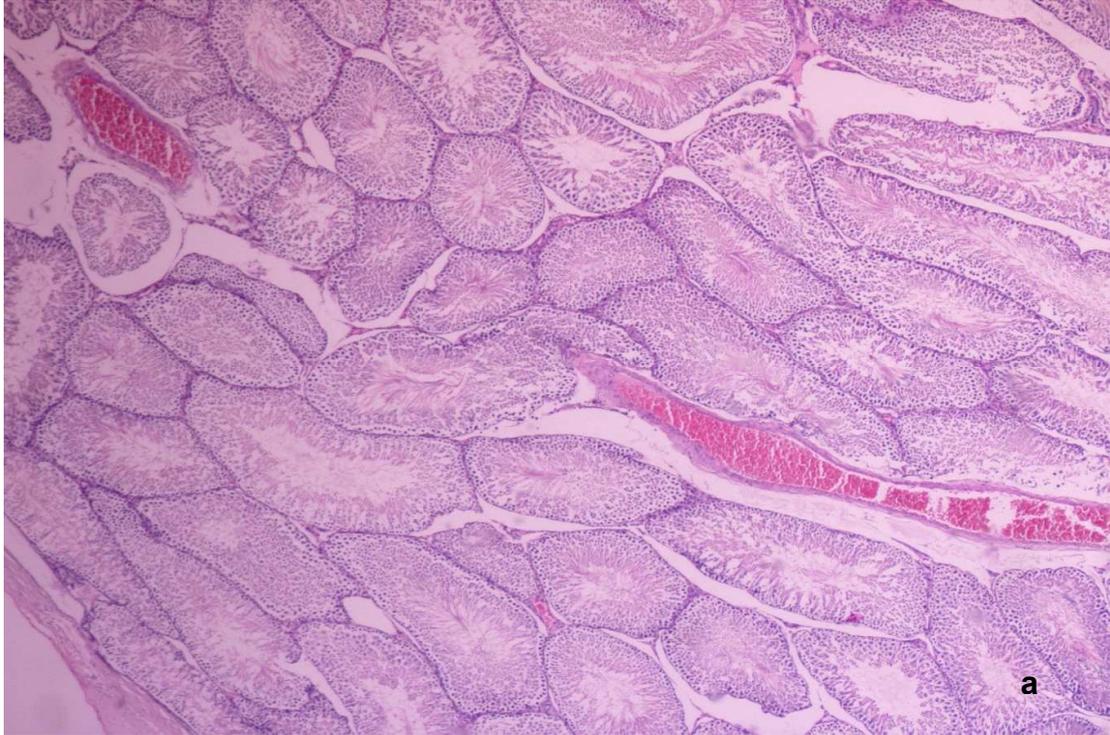
* p<0.05, ** p<0.01

4.2. Histopatolojik İnceleme

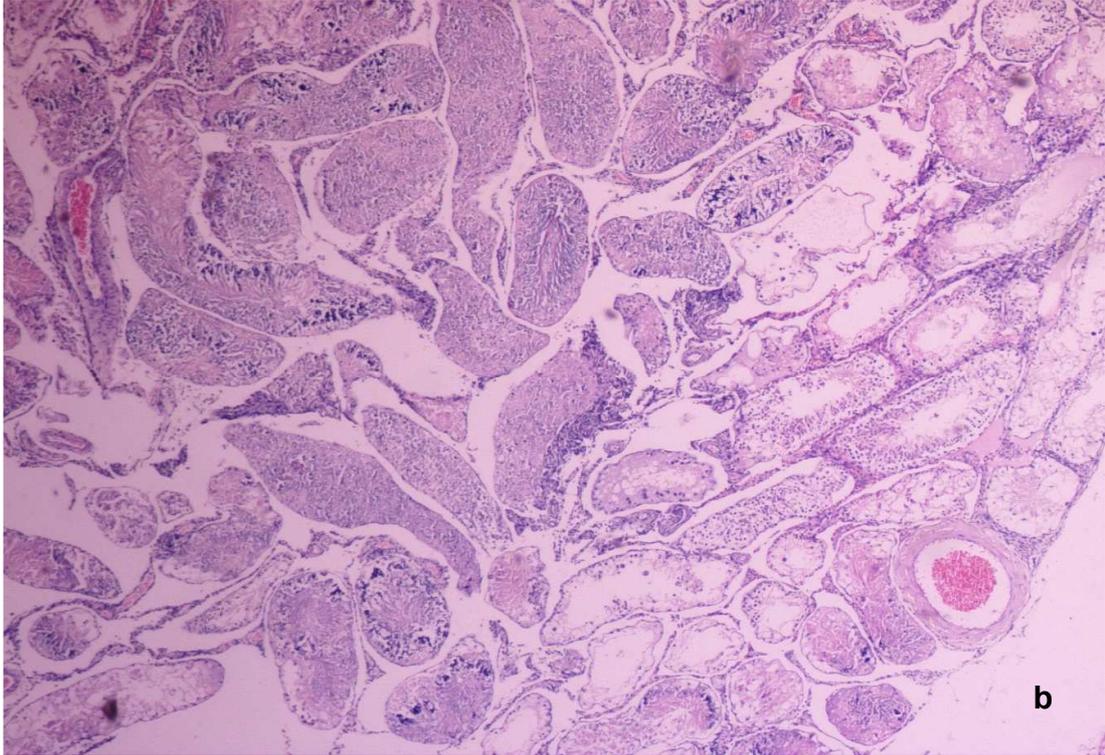
Orşit oluşturulan testis ve kontralateral (sol) testiste akut ve kronik inflamasyonun genel parametreleri, Cosentino skorlaması ile testiküler doku hasarı (nekroz) ve Johnsen skorlaması ile spermatogenez histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Cosentino skorlaması evresinde artış hasarda artış; johnsen skorlamasında elde edilen değer azalması spermatogenezin bozulması lehine değerlendirilmiştir.

Dokularda seminifer tübül dağılımları (Şekil 4.2.1.a), semifer tübülde nekroz ve hasarsız tübüllerde spermatogenezde azalma (Şekil 4.2.1.b), periepididimal hücre infiltrasyonu ve lenfosit infiltrasyonu (Şekil 4.2.1.c), intertisyel alanda iltihabi hücre infiltrasyonu (Şekil 4.2.1.d), spermatogenezin normal olduğu tübüller (Şekil 4.2.1.e), konjesyon ve nekroz (Şekil 4.2.1.f) varlıkları gösterilerek her bir grup kendi içinde ve gruplar arasında karşılaştırılmıştır.

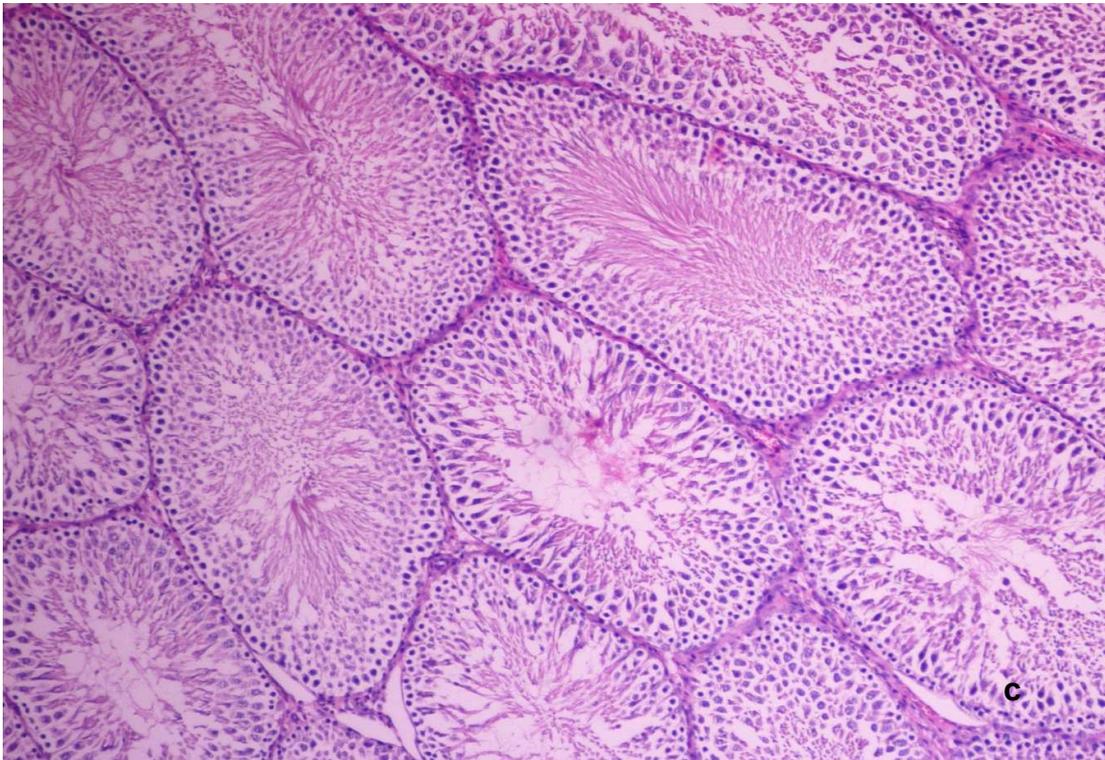
Şekil 4.2.1. Histopatolojik İnceleme



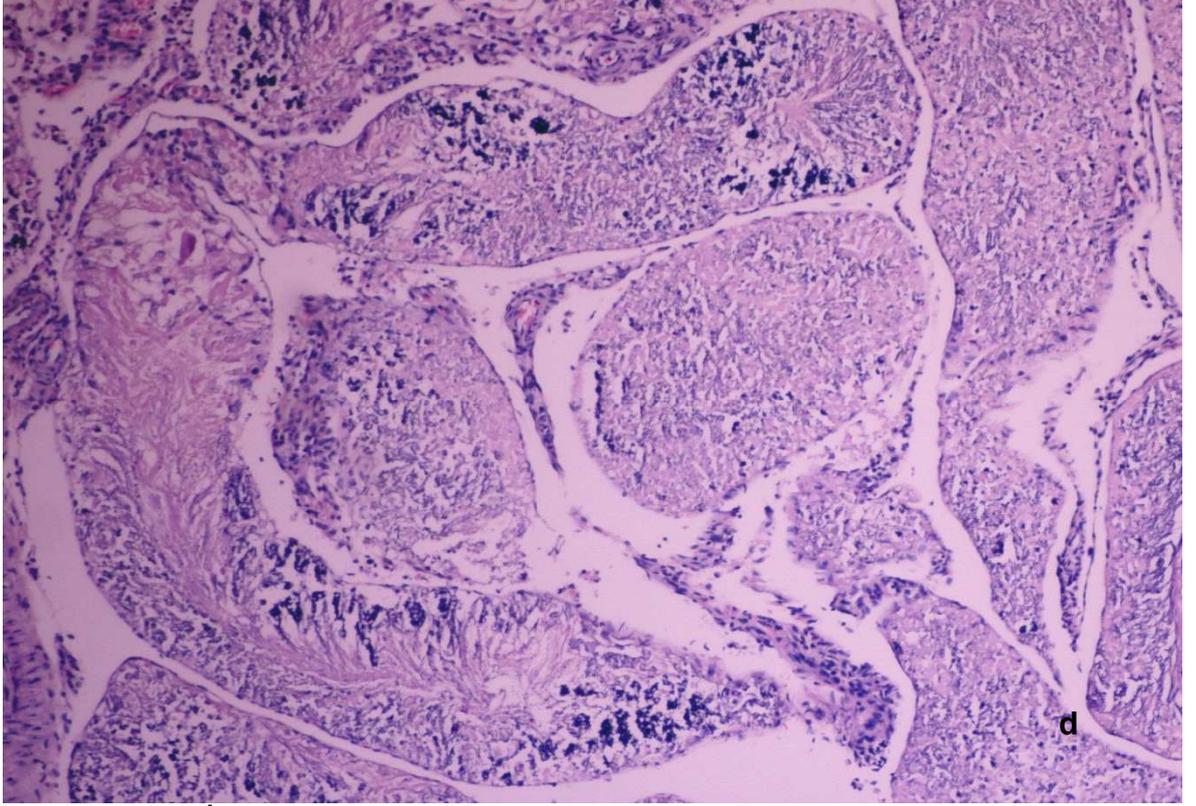
Şekil 4.2.1.a. Seminifer tübül dağılımı (HEEx100)



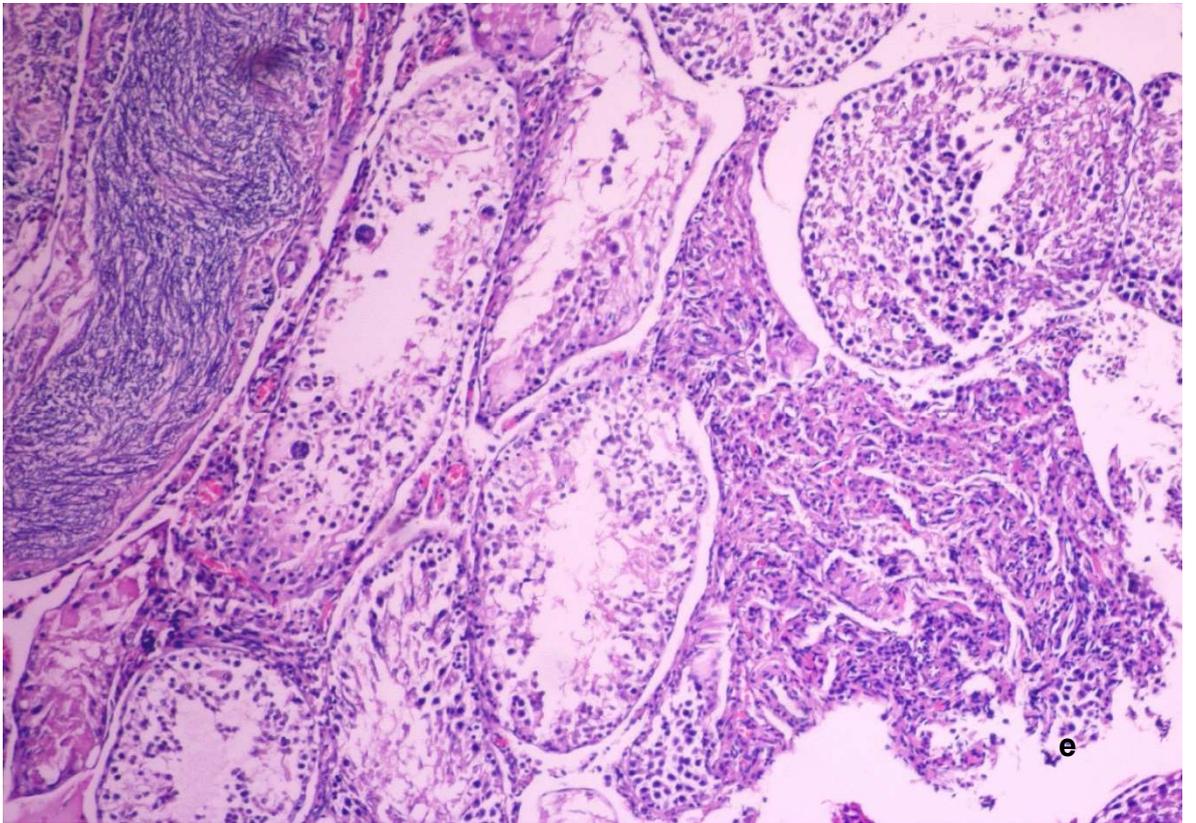
Şekil 4.2.1.b. Seminifer t b llerde nekroz, hasarsız t b llerde spermatogenezde azalma (HEX100)



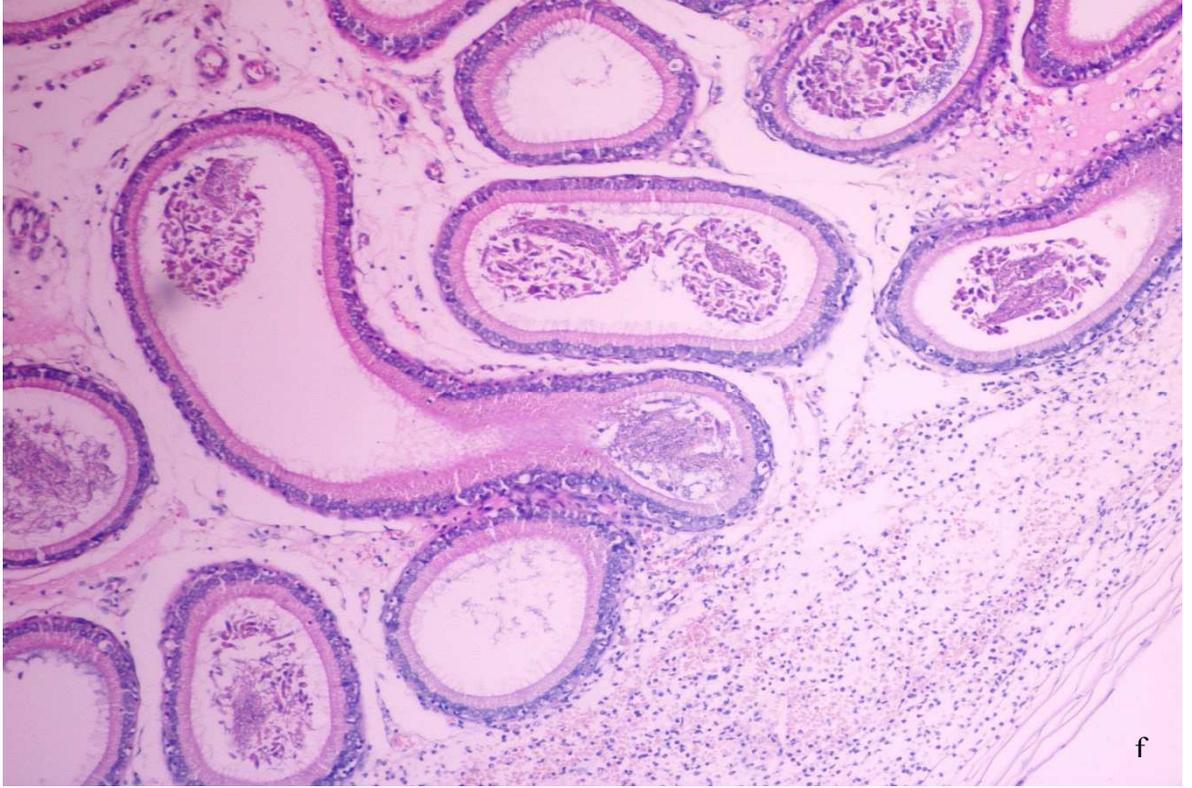
Şekil 4.2.1.c. Periepididimal infiltrasyon ve lenfosit infiltrasyonu (HEX100)



Şekil 4.2.1.d. İntertisyel alanda iltihabi hücre infiltrasyonu (HEEx100)



Şekil 4.2.1.e. Spermatogenezin normal olduğu tübüller



Şekil 4.2.1.f. Konjesyon, nekroz (HEX100)

KG'da kanal epitelyum lenfosit, intertisyel lenfosit, duktal lenfosit yoğunluğu bakımından sağ ve sol testisler arasında bulunan fark içerdiği lenfosit yoğunluğu ile açıklanabilir (Tablo 4.2.1.).

Sağ ve sol testis kanal epitelyum, intertisyel ve duktal lenfosit yoğunluğu TG'da sağ testiste artmış bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 4.2.1.).

Tablo 4.2.1. Gruplarda Histopatolojik Parametrelerin Sağ ve Sol Testisler Arasında Karşılaştırılması

P değerleri						
Histopatolojik parametreler	Grup KG	Grup SG	Grup OG	Grup AG	Grup PESG	Grup TG
Hasar	0.194	0.059	0.039	0.180	0.915	0.48
Abse	1	1	1	1	1	0.180
Nötrofil intertisyel	0.157	0.157	0.317	1	1	0.785
Nötrofil duktal	0.157	0.157	1	1	1	0.414
Kanal epitelyum lenfosit	0.034*	1	0.257	0.157	0.317	0.034*
Konjesyon	1	0.102	0.157	0.414	0.705	0.317
Lenfosit intertisyel	0.180	0.046*	0.317	0.317	0.317	0.046*
Lenfosit duktal	0.025*	0.180	0.157	0.564	0.655	0.025*
Johnsen	0.043*	0.046*	0.223	0.80	0.753	0.833

*p<0.05

Gruplarda sağ testis ve kontralateral (sol) testiste ortaya çıkan histopatolojik değişikliklerden Johnson ve Cosentino skorlamasının median değerleri Tablo 4.2.2. de gösterilmiştir (Tablo 4.2.2.).

Histopatolojik incelemede sağ ve sol testis Johnsen skoru OG'da sağ testiste sola göre anlamlı düşük bulundu (p<0.05).

Sağ ve sol testis Johnsen skoru AG'da sağ testiste sola göre anlamlı düşük bulundu (p<0.05).

PESG'da sol testis hasar oranı sağa testise göre azalmış bulundu (p<0.05).

TG'de sağ ve sol testis hasar oranı ve johnsen skoru bakımından fark bulunamadı (p>0.05).(Tablo 4.2.2).

Tablo 4.2.2. Sağ ve Sol Testiste Cosentino Hasar ve Johnsen Skor Ortanca Değerleri

Gruplar	COSENTINO SAĞ TESTİS	JOHNSEN SKOR SAĞ TESTİS	COSENTINO SOL TESTİS	JOHNSEN SKOR SOL TESTİS
KG	3 (1.75-4.0)	7.6 (6.3-8.1)	3 (2.0-4.0)	8.4 (8.22-8.4)
SG	1.5 (1.0-2.0)	8.7 (8.17-9.02)	2 (2.0-2.5)	7.9 (7.65-8.3)
OG	4 (3.0-4.0)	7.3 (6.35-8.02)	3 (2.0-4.0)	7.9 (7.47-8.2)
AG	4 (4.0-4.0)	7.15 (6.22-8.02)	3 (2.5-4.0)	8.3 (7.97-8.5)
PESG	3.5 (1.75-4.0)	7.6* (6.25-8.75)	2.5 (2.0-4.0)	7.85 (6.32-8.8)
TG	3 (1.75-4.0)	8.4* (7.67-9.15)	3 (3.0-4.0)	8.4 (8.2-8.4)

*p<0.05

SG'na göre tüm gruplarda hasar oranı artmış bulundu(p<0.05). Apse oluşumu KG'da belirgindi. Yine intertisyel ve duktal nötrofil varlığı diğer gruplarla karşılaştırıldığında KG'da belirgindi(p<0.05). KG'da kanal epitelyum lenfosit infiltrasyonu diğer tüm gruplardan düşük izlendi (p<0.05).

Dokularda konjesyon PESG'da SG'na oranla yüksek bulundu (p<0.05). İntertisyel lenfosit yoğunluğu OG ve AG'de KG, SG, PESG ve TG'larına oranla daha yüksek izlendi (p<0.05).

Duktal lenfosit yoğunluğu SG, OG, PESG'larında KG ve TG'na oranla daha fazla izlendi (p<0.05). Yine OG ve AG'larında PESG ve TG'larına oranla daha fazla duktal lenfosit izlendi (p<0.05).

Johnsen skoru, OG ve AG'larında KG ve SG'larına oranla azalmış bulundu (p<0.05). PESG ve TG'larında Johnsen skoru OG ve AG'larına göre

artmış bulundu ($p<0.05$). OG ve AG gruplarında johnsen skoru açısından fark bulunamadı. P/E-selektin blokajı yapılan gruplar arasında Johnsen skoru açısından fark bulunamadı (Tablo 4.2.3.).

Tablo 4.2.3. Grupların Sağ Testis Histopatolojik İncelemelerinde Kendi Aralarında Ortaya Çıkan Farklılıkları

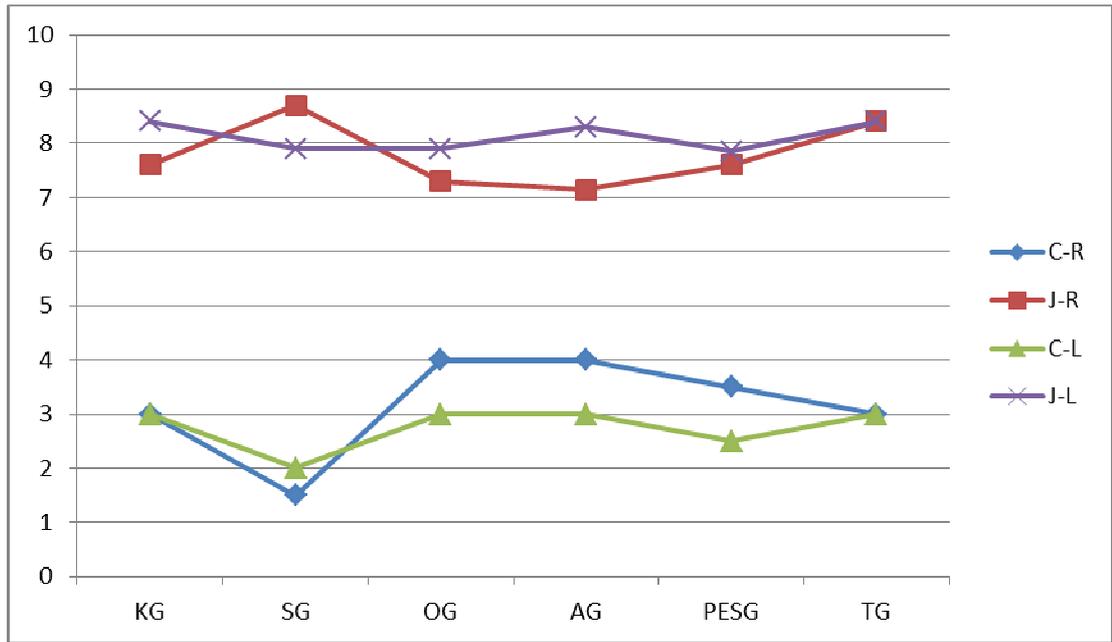
Grup	hasar	Abse	Nötrofil-intertisyel	Nötrofil-duktal	Kanal epiteli-lenfosit	konjesyon	Lenfosit-intertisyel	Lenfosit-duktal	Johnsen
KG-SG	,065	,001*	,008*	,002*	,003*	,062	,322	,033*	,214
KG-OG	,000*	,000*	,004*	,000*	,002*	,147	,000*	,003*	,007*
KG-AG	,002*	,000*	,001*	,000*	,007*	,130	,007*	,004*	,044*
KG-PESG	,737	,005*	,022*	,007*	,001*	,101	,138	,019*	,173
KG-TG	,026*	,000*	,003*	,000*	,007*	,084	,260	,009*	,313
SG-OG	,000*	1,000	,099	,099	,103	,338	,001*	,011*	,002
SG-AG	,002*	1,000	1,000	1,000	,278	,226	,007*	,012*	,014
SG-PESG	,045*	1,000	1,000	1,000	,043*	,023*	,523	1,000	,149
SG-TG	,575	1,000	1,000	1,000	1,000	,093	,317	,019*	,377
OG-AG	,138	1,000	,138	,138	,598	,423	,092	1,000	,872
OG-PESG	,000*	1,000	,082	,082	,066	,086	,001	,021*	,009
OG-TG	,001*	1,000	,119	,119	,113	,420	,002	,005*	,011
AG-PESG	,001*	1,000	1,000	1,000	,103	,073	,018	,023*	,036
AG-TG	,002*	1,000	1,000	1,000	,171	,575	,005	,005*	,016
PESG-TG	,040*	1,000	1,000	1,000	,072	,043	,322	,033*	,227

* $p<0.05$

TG'da sağ testis Johnsen skoru, OG, AG'larına göre anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$) (Şekil 4.2.2.).

TG'de sol testis Johnsen skorları, OG ve PESG'den yüksek bulundu ($p<0.05$) (Şekil 4.2.2.).

PESG'de sol testis hasarı, TG, AG ve OG'larına göre azalmış bulundu (Şekil 4.2.2.).



Şekil 4.2.2. Sağ ve Sol Testiste Cosentino Hasar ve Johnsen Skor Değerlerinde Gruplar Arasında Ortaya Çıkan Farklılık

TARTIŞMA

Inflamasyon, enfeksiyon ve travma nedeni ile kan-testis bariyerinin bütünlüğünün bozulması immün sistemden korunan germ hücrelerinin kaybı ile sonuçlanabilmektedir. Deneysel ve klinik çalışmalar, tek taraflı testiküler hasarın karşı taraf testiste değişikliklere yol açabileceğini göstermiştir [82, 83, 84]. Çoğu araştırmacı, testiküler hasar ve ASA oluşumu arasında korelasyon saptamasına rağmen bir kısım araştırmacı da korelasyon saptamamıştır [85]. ASA oluşumunda enflamasyonun immünolojik hücrelerinin rol aldığı gösterilmiştir [86]. Cosentino ve arkadaşları [80], antisperm antikörlerinin karşı testis hasarından sorumlu olduğunu, Cerasaro ve arkadaşları [87], dokuda artmış sitotoksik antitestis antikörlerinin bulunduğunu vurgulamışlardır. Heindel ve arkadaşları [88], karşı testis hasarının hücresel ve humoral immünite ile ilgili olduğunu belirtmişlerdir. Karagüzel ve arkadaşları [89], karşı taraf testis hasarına sempatik aktivitenin neden olabileceğini öne sürmüşlerdir. Ancak, kontralateral hasar mekanizması, halen açıklığa kavuşturulamamıştır.

Endotelin Weibel-palade cisimciklerinde depolanmış olarak bulunan ve proinflamatuvar uyarılara yanıt olarak hızla açığa çıkan P-selektin, iskemi reperfüzyon hasarında, komplemanın oluşturduğu akut akciğer hasarında, romatoid artrit, sinovyal mikrovaskülitte ve trombotik ve enflamatuvar olaylarda rol oynar [90, 91]. Doku hasarı, inflamasyon ve immün reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan sitokinlerle veya bakteriyel lipopolisakkaritlerle uyarılarak endotelden açığa çıkan E-selektin ise kronik inflamasyonda ve inflamasyonun geç fazında görev alır. Nötrofillerle endotel arasındaki kuvvetli adezyonda nötrofillerin P-ve E-selektine bağlanması, ilk ve en önemli yanıttır [90, 92, 93]. Yapılan çalışmalar, sıçan testisinde ortaya çıkan iskemi/reperfüzyon hasarının P/E-selektin aktivasyonu ile ilgili olabileceğini ve bu hasarın P-selektin ve E-selektin blokajı ile önlenebileceğini göstermiştir [12]. Bu çalışmada, E.Coli ile oluşturulan deneysel epididimoorşit modelinde P- ve E-selektin blokajının karşı taraf testis hasarına ve ASA oluşumuna etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Oksidatif strese bağı testiküler hasarda ortaya çıkan reaktif faz moleküllerinin lokal ve uzak organ hasarına yol açtığı bilinmektedir [94]. Orşitin oksidatif stresi artırarak ipsilateral ve kontralateral testis hasarına neden olduğu bildirilmiştir [4]. PMN'ler, testiküler hasara yol açan moleküler olayların başlatıcı hücreleridir. Testise PMN ekstrasvazasyonu, PMN'lerin degranülasyonu ve reaktif faz moleküllerinin açığa çıkmasına neden olur. İnflamatuar yanıt sırasında dokuya PMN göçü, selektin aracılı bir dizi düzenlenmiş olayları içerir. İnflamatuar sitokinler olan TNF- α ve IL-1 endotel hücrelerinde P/E selektin ekspresyonuna neden olarak lökositlerin endotel ile etkileşimini sağlarlar. Proinflamatuvar sitokinlerde artış, selektin ekspresyonunda artış ve nötrofil göçü ile koreledir. İnflamasyonda çözünür P/E-selektin serum düzeyleri yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, P/E-selektin salınımının testiküler hasarda rol oynadığını göstermektedir [95].

İnflamatuar dokularda P- ve E-selektin blokajının nötrofil göçünü azalttığını gösterir çalışmalar yapılmıştır [95]. Yine, P- ve E-selektin antikoru kullanılarak inflamasyonda nötrofil infiltrasyonunun azaltılmasının doku hasarını azalttığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [96]. Lysiak ve arkadaşları, iskemi ve reperfüzyon hasarında kontralateral testis hasarının E-selektin ekspresyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir [97]. Çelebi'nin yaptığı çalışmada, P/E-selektin blokajının iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu etkilerini gösterir bulgular elde edilmiştir [12]. Bu çalışmada da P/E-selektin blokajının kontralateral hasarı önleyebileceğini destekler bulgular elde edilmiştir.

Bizim çalışmamızda, orşit modelinde uygulanan farklı tedavi seçenekleri karşılaştırıldığında, orşit grubunda SG oranla ASA düzeylerinde belirgin artış olduğu ve antimikrobiyal tedavi verilen gruplarda anlamlı olarak ASA düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir. P/E-selektin verilen PESG'de ise 14. günde ASA düzeylerinde azalma olmakla birlikte istatistiksel olarak verilmeyen gruplarla farklılık ortaya çıkmamıştır. Bu durum P/E-selektin uygulamasının orşite bağı ASA düzeylerini antimikrobiyal tedavi ile birlikte verildiğinde azalttığını düşündürmektedir. Bu sonuçlar P/E-selektin antikor

kullanımının inflamatuvar yanıt baskıladığını ancak antimikrobiyal tedavinin ASA oluşumunu önlemek için gerekli olduğunu ortaya koymaktadır.

AG grubunda 0. ve 14. gün E-selektin değerleri arasında fark saptanmazken ($p>0.05$), diğer grupların 14. gün E-selektin değerleri, 0. güne göre azalmıştır. Bu azalma, SG, OG ve TG'de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuşken ($p<0.05$), PESG'da ise gözlenen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). E-selektin düzeylerinin gruplarda farklı sonuçlar göstermesi E-selektinin inflamasyon sürecinde değişik zamanlarda rol oynaması ve dokudan dokuya, cinse göre farklı ekspresyon göstermesi ve değişken ekspresyon kinetikleri ile açıklanabilir [98, 99]. E-selektin inflamasyonda sentez edilerek P-selektinden daha sonra ortaya çıkmakta[100] ve azalmış E-selektin düzeyleri, çalışmamızda baskılanmış inflamasyonu göstermektedir.

P-selektin değerleri, SG'de OG'ye göre azalmış, AG, PSEG ve TG grupları ile 14. gündeki düzeyler açısından fark bulunmamıştır. Çalışmamızda elde edilen bu sonuç orşit sonrasında tedavi yapılmaması durumunda depo granüllerinden hazır salınan P-selektinin hızlı tüketildiğini göstermektedir. 14. günde yapılan ölçümlerde OG grubuna oranla PESG ve TG'de P-selektin değerlerinde artış saptanması, ancak AG ile PESG ve TG grupları arasında fark bulunmaması, inflamasyonda hızla salınan P-selektinin blokerle yapılan proteolitik yıkımının önüne geçmesine bağlanabilir [90, 100]. P-selektinin 0. ve 14. günlerde elde edilen değerlerinin fark göstermemesi her iki grupta P-selektin blokerlerinin kullanılmasıyla açıklanabilir.

Gruplarda 0. ve 14. günlerde P-selektin değişimleri incelendiğinde, OG ve AG gruplarında 14. günde P-selektin değerlerinin 0. güne göre azaldığı ($p<0.05$), PESG ve TG gruplarında arttığı gözlenmektedir ($p>0.05$). P-selektin blokajı yapılan gruplarda beklenen aksine artış olması, nötrofil adezyonunun başlangıcında rol alan P-selektinin sentez edilmeden hazır bulunduğu granüllerden salınmasına sonrada hızla kaybolmasına bağlı olabilir [90, 100]. P-selektinin inflamasyona verdiği yanıt ve moleküler kinetiği bu molekül ile ilgili farklı sonuçların elde edilmesine dolayısıyla bu konuda kesin sonuçlara varılamamasına yol açmaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada elde edilen

sonuçlar, P-selektinin orşitte bağlı inflamasyondaki rölünü açıklamada yetersiz kaldığı düşünölmektedir.

Çalışmamızda deneysel orşit oluşturulan testiste orşitin lokal bulguları ve inflamasyonun oluşturduğu testiküler hasar gösterilmiştir. Yine, alışmamızda inflamasyonun lokal bulguları görölmeyen kontralateral testiste oluşan testiküler hasar, histopatolojik bulgularla desteklenmiştir.

Testisin normalde mozaik bir yapısı vardır; her seminifer túbölüs komplet spermatogenez içermemektedir [21]. Bu çalışmada tedavi grubunda sağ testis Johnsen skoru, OG, AG ve PESG gruplarında göre anlamlı yüksek bulunmuştur. TG'de sol testis Johnsen skoru, OG ve PESG'den yüksek bulunmuştur. TG'de sağ ve sol testis hasar oranı bakımından fark bulunamazken, P/E-selektin blokajı yapılmayan gruplarda kontralateral testiste orşit olan tarafa göre histopatolojik hasarda artış gözlenmektedir. Bu sonuçlar P/E-selektin blokajının testiste olan histopatolojik hasarı önlemediği ancak ilerlemesine engel olduğunu düşöndürmektedir.

SONUÇLAR

- 1- Çalışmada oluşturulan orşit sonrasında çözünür P/E-selektin serum düzeyleri yüksek bulunması ve verilen tedavinin ardından azalmış E-selektin düzeyleri, çalışmamızda baskılanmış inflamasyonu göstermektedir. Bu sonuçlar P/E-selektin salınımının testiküler hasarda rol oynadığını desteklemektedir
- 2- Çalışma gruplarında elde edilen farklı P-selektin sonuçlar P-selektinin orşitte bağlı inflamasyondaki rolünü açıklamada yetersiz kaldığı düşünülmektedir.
- 3- Tedavi gruplarında P/E-selektin uygulamasının orşite bağlı ASA düzeylerini antimikrobiyal tedavi ile birlikte verildiğinde azalttığını düşündürmektedir.
- 4- P/E-selektin blokajı yapılmayan gruplarda kontralateral testiste orşit olan tarafa göre histopatolojik hasarda artış gözlenmektedir.
- 5- P/E-selektin blokajının inflamatuvar yanıtı baskıladığını testiste olan histopatolojik hasarı önlemediği ancak ilerlemesine engel olduğunu düşündürmektedir.
- 6- Bu sonuçlar antimikrobiyal tedavi ile birlikte P/E-selektin blokaj tedavisi verilmesinin inflamasyonun spermatogeneze olumsuz etkisinden koruyucu etkisi olduğunu düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Trojian TH, Lishnak TS, Heiman D. Epididymitis and Orchitis: An Overview. *Am Fam Physician* April 2009; 79(7): 583-587.
2. Karabulut A. İmmün Muafiyeti Olan Organ: Testis. *Infertilite* 2007; 28: 46-48.
3. Lekili M, Tekgül S, Ergen A, Taşar C, Haşçelik G. Acute Experimental Unilateral Orchitis in the Rabbit and its Effect on Fertility. *International Urology and Nephrology* 1992; 24(3): 291-297.
4. Kaya M, Boleken ME, Zeyrek F, Ozardali I, Kanmaz T, Erel O, Yücesan S. Oxidative and Antioxidative Status in the Testes of Rats with Acute Epididymitis. *Urologia Internationalis* 2006; 76(4): 353-358.
5. Schuppe HC, Meinhardt A. Immunology of the Testis and Excurrent Ducts. In: Schill WB, Comhaire F, Hargreave TB (eds), *Andrology for Clinician*, 1. Baskı, Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 2006; 292-300.
6. Ludwing M, Johannes S, Bergmann M, Failing K, Schiefer HG, Weidner W. Experimental *Escherichia Coli* Epididymitis in Rats: A Model to Assess the Outcome of Antibiotic Treatment. *BJU Int* Dec 2002; 90(9): 933-938.
7. Tanaka K, Fujisawa M, Arakawa S, Kamidono S. Lokal Expression of Cytokine Messenger RNA in Rat Model of *Escherichia Coli* Epididymitis. *The Journal of Urology* Dec 1995; 154(6): 2179-2184.
8. Lucchetta R, Clavert A, Meyer JM, Bollack C. Acute Experimental *E. Coli* Epididymitis in the Rat and its Consequences on Spermatogenesis. *Urol Res* 1983; 11(3): 117-120.
9. Karagüzel G, Tanyel FC, Kılınç K, Büyükpamukçu N, Hiçsönmez A. The Preventive Role of Chemical Sympathectomy on Contralateral Testicular Hypoxic Parameters Encountered During Unilateral Testicular Torsion. *British Journal of Urology* 1994, 74(4): 507-510.
10. Bosse R, Vestweber D. Only Simultaneous Blocking of the L- and P-Selectin Completely Inhibits Neutrophil Migration into Mouse Peritoneum. *Eur J Immunol* Dec 1994; 24(12): 3019-3024.

11. Celebi M, Paul AG. Blockade of P-Selectin Reduces Neutrophil Infiltration into the Murine Testis after Ischemia-Reperfusion-Injury. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* Dec 2008; 115(12): 457-460.
12. Celebi M., Paul A.G.A. Blocking Both E-Selectin and P-Selectin Inhibits Neutrophil Recruitment into the Murine Testis after Ischemia-Reperfusion-Induced Injury. *Acta Vet Brno* 2008; 77: 321-326.
13. Sukhotnik I, Voskoboinik K, Lurie M, Coran AG, Greenblatt R, Shiloni E, Eldar S, Mogilner JG. Effect of Testicular Ischemia-Reperfusion on Recruitment of Neutrophils, E-Selectin Expression and Germ Cell Apoptosis in the Contralateral Testis in a Rat. *Pediatr Surg Int* May 2007; 23(5): 479-485.
14. Sadler TW. *Langman Medikal Embriyoloji. Çeviren Başaklar AC*, 9. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara, 2005; 328-339.
15. Snell RS. *The Abdominal Wall Clinical Anatomy*. 3. Edition, Little Brown, Boston: 1986; 168-175.
16. Williams PL, Warwick R. *Splanchnology Gray's Anatomy*. 36. Edition, Churchill Livingstone, Edinburgh, 1980; 1410-1417.
17. Redman JF. *Anatomy of Genitourinary System*. In Gillenwatwr J, Grayhack J, Howards S, Duckett J (eds), *Adult and Pediatric Urology*, 4. Baskı, Mosby-Year Book, St Louis, 1987; 3-62.
18. Kayalı H. *Özel Histoloji*. İstanbul Üniversitesi Film Merkezi, 1989; 218-228.
19. Sternberg SS. *Histology for Pathologist*. Raven Press Ltd, New York, 1992: 731-739.
20. Sadler TW. *Langman Medikal Embriyoloji. Çeviren Başaklar AC*, 9. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara, 2005; 26-28.
21. Weinbauer GF, Luetjens CM, Simoni M, Nieschlag E. *Physiology of Testicular Function*. *Andrology*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 2010.
22. Hedger MP, Meinhart A. Cytokines and Immune-Testicular Axis. *Reprod J Immunology* Feb 2003; 58(1): 1-26.
23. Tung KS, Teuscher C. Mechanisms of Autoimmune Disease in the Testis and Ovary. *Hum Reprod Update* Jan 1995; 1(1): 35-50.

24. Guazzone VA, Rival C, Denduchis B, Lustig L. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1/CCL2) in Experimental Autoimmune Orchitis. *J Reprod Immunol* Dec 2003; 60(2): 143-157.
25. Hedger MP. Testicular Leukocytes: What are They Doing? *Rev Reprod* Jan 1997; 2(1): 38-47.
26. Pöllänen P, Cooper TG. Immunology of the Testicular Excurrent Ducts. *J Reprod Immunol* May 1994; 26(3): 167-216.
27. Hedger MP. Macrophages and Immune Responsiveness of the Testis. *J Reprod Immunol* Oct-Nov 2002; 57 (1-2): 19-34.
28. Tung SK, Tung CT, Meng AL. Autoimmunity to Spermatozoa and the Testis. *Immunol Rev* April 1981; 55 (1): 217-255.
29. Dörr H, Bohring C, Krause W. Are Antisperm Antibodies Indeed Sperm-specific? *Andrologia* Oct 2005; 37(5): 185-187.
30. Barrat CLR, Havelock LM, Harrison EP, Cooke ID. Antisperm Antibodies are More Prevalent in Men with Low Sperm Motility. *Int J Androl* April 1989; 12(2): 110-116.
31. Francavilla F, Romano R, Santucci R, Marrone V, Properzi G, Ruvolo G. Interference of Antisperm Antibodies with the Induction of the Acrosome Reaction by Zona Pellucida (ZP) and its Relationship with the Inhibition of ZP Binding. *Fertility Sterility* Jun 1997; 67(6): 1128-1133.
32. Kremer J, Jager S. The Significance of Antisperm Antibodies for Sperm-cervical Mucus Interaction. *Hum Reprod*, 1992; 7(6): 781-784.
33. Crosignani PG, Rubin BL. Optimal Use of Infertility Diagnostic Tests and Treatments. *Hum Reprod* March 2000; 15(3): 723-737.
34. Clarke GW, Elliott PJ, Smaila C. Detection of Sperm Antibodies in Semen Using the Immunobead Test: A Survey of 813 Consecutive Patients. *Am J Rep Immun Microbiol* 1985; 7: 118-123.
35. Levy S, Robaire B. Segment-Specific Changes with Age in the Expression of Junctional Proteins and the Permeability of the Blood-Epididymis Barrier in Rats. *Biol Reprod*, 1999; 60: 1392-1401.
36. Mankertz J, Tavalali S, Schmitz H, Mankertz A, Riecken EO, Fromm M, Schulzke JD. Expression from the Human Occludin Promoter is

- Affected by Tumor Necrosis Factor Alpha and Interferon Gamma. *J Cell Sci* 2000; 113: 2085-2090.
37. Flippini A, Riccioli A, Padula F, Lauretti P, D'Alessio A, De Cesaris P, Gandini L, Lenzi A, Ziparo E. Control and Impairment of Immune Privilege in the Testis and in Semen. *Hum Reprod Update* Sep-Oct 2001; 7(5): 444-449.
 38. Kelly RW, Carr GG, Critchley HO. A Cytokine Switch Induced by Human Seminal Plasma: An Immune Modulation with Implications for Sexually Transmitted Disease. *Hum Reprod* April 1997; 12(4): 677-681.
 39. Wong CH, Mruk DD, Lui WY, Chenk CY. Regulation of Blood-Testis Barrier Dynamics: An in Vivo Study. *J Cell Sci* Feb 2004; 117: 783-798.
 40. Diemer T, Hales DB, Weidner W. Immune Endocrin Interactions and Leydig Cell Function. *Andrologia* Feb 2003; 35(1): 55-63.
 41. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic Cells and the Control of Immunity. *Nature* March 1998; 392(6673): 245-252.
 42. Frossi B, De Carli M, Pucillo C. The Mast Cell: An Antenna of the Micro Environment that Directs the Immune Response. *J Leukoc Biol* Apr 2004; 75(4): 579-585.
 43. Nistal M, Santamaria L, Paniagua R. Mast Cells in the Human Testis and Epididymis from Birth to Adulthood. *Acta Anat (Basel)* 1984; 119(3): 155-160.
 44. Trojian TH, Lishnak TS, Heiman D. Epididymitis and Orchitis: An Overview. *Am Fam Physician*, April 2009. 79(7): 583-587.
 45. Kadish HA, Bolte RG. A Retrospective Review of Pediatric Patients with Epididymitis, Testicular Torsion, and Torsion of Testicular Appendages. *Pediatrics* Jul 1998; 102(1 Pt 1): 73-76.
 46. Somekh E, Gorenstein A, Serour F. Acute Epididymitis in Boys: Evidence of a Post-Infectious Etiology. *J Urol* Jan 2004; 171(1): 391-394.
 47. Ciftci AO, Senocak ME, Tanyel FC, Büyükpamukçu N. Clinical Predictors for Differential Diagnosis of Acute Scrotum. *Eur J Pediatr Surg* 2004; 14(5): 333-338.

48. Haecker FM, Hauri-Hohl A, von Schweinitz D. Acute Epididymitis in Children: A 4-Year Retrospective Study. *Eur J Pediatr Surg* June 2005; 15(3): 180-186.
49. Bozdoğan Ö. Bozdoğan Patoloji. 1. Baskı, NM Medikal&Nobel Yayıncılık, Ankara, 2007; 47-60, 328-339.
50. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran's Pathologic Basic of Disease. 7. Edition, Elsevier Saunders, Philadelphia, 2004.
51. Michiels C. Endothelial Cell Functions. *Journal of Cellular Physiology* Sep 2003; 196(3): 430-443.
52. Patel DK, Cuvelier SL, Wiehler S. Selectins: Critical Mediators of Leukocyte Recruitment. *Sem Immunol* April 2002; 14(2): 73-81.
53. Ley K, Gaetgens P, Fennie C, Singer MS, Lasky LA, Rosen SD. Lectin-Like Cell Adhesion Molecule 1 Mediates Leukocyte Rolling in Mesenteric Venules in Vivo. *Blood* June 1991; 77(12): 2553-2555.
54. Schleiffenbaum B, Spertini O, Tedder TF. Soluble L-Selectin is Present in Human Plasma at High Levels and Retains Functional Activity. *J Cell Biol* Oct 1992; 119(1): 229-238.
55. Crockett-Torabi E, Sulenbarger B, Smith CW, Fantone JC. Activation of Human Neutrophils through L-Selectin and Mac-1 Molecules. *J Immunol* March 1995; 154(5): 2291-2302.
56. Collins T, Read MA, Neish AS, Whitley MZ, Thanos D, Maniatis T. Transcriptional Regulation of Endothelial Cell Adhesion Molecules: NF-Kappa B and Cytokine-Inducible Enhancers. *Faseb J* 1995; 9: 899-909.
57. Thanos D, Maniatis T. NF-Kappa B: A Lesson in Family Values. *Cell* 1995; 80(4): 529-532.
58. Gamble JR, Khew-Goodall Y, Vadas MA. Transforming Growth Factor-Beta Inhibits E-Selectin Expression on Human Endothelial Cells. *J Immunol* 1993; 150(10): 4494-4503.
59. Bevilacqua MP, Stengelin S, Gimbrone MA, Seed B. Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule 1: An Inducible Receptor for Neutrophils Related to Complement Regulatory Proteins and Lectins. *Science* 1989; 243(4895): 1160-1165.
60. Pober JS, Gimbrone MA, Lapierre LA, Mendrick DL, Fiers W, Rothlein R, Springer TA. Overlapping Patterns of Activation of Human

- Endothelial Cells by Interleukin 1, Tumor Necrosis Factor, and Immune Interferon. *J Immunol* Sep 1986; 137(6):1893-1896.
61. Cotran RS, Gimbrone MA, Bevilacqua MP, Mendrick DL, Pober JS. Induction and Detection of a Human Endothelial Activation Antigen in Vivo. *J Exp Med* August 1986; 164(2): 661-666.
 62. Picker LJ, Kishimoto TK, Smith CW, Warnock RA, Butcher EC. ELAM-1 is an Adhesion Molecule for Skin-Homing T Cells. *Nature* 28 Feb 1991; 349: 76-799.
 63. Smeets EF, De Vries T, Leeuwenberg JF, Van Den Eijnden DH, Buurman WA, Neefjes JJ. Phosphorylation of Surface E-Selectin and the Effect of Soluble Ligand (Sialyl Lewisx) on the Half-Life of E-Selectin. *Eur J Immunol* Jan 1993; 23(1): 147-151.
 64. Wagner DD, Olmsted JB, Marder VJ. Immunolocalization of von Willebrand Protein in Weibel-Palade Bodies of Human Endothelial Cells. *J Cell Biol* Oct 1982; 95(1): 355-360.
 65. Chu W, Presky DH, Swerlick RA, Burns DK. Alternatively Processed Human E-Selectin Transcripts Linked to Chronic Expression of E-Selectin in Vivo. *J Immunol* Nov 1994; 153(9): 4179-4189.
 66. Lo SK, Lee S, Ramos RA, Lobb R, Rosa M, Chi-Rosso G, Wright SD. Endothelial-Leukocyte Adhesion Molecule 1 Stimulates the Adhesive Activity of Leukocyte Integrin CR3 (CD11b/CD18, Mac-1, alpha m beta 2) on Human Neutrophils. *J Exp Med* June 1991; 173(6): 1493-1500.
 67. McEver RP, Beckstead JH, Moore KL, Marshall-Carlson L, Bainton DF. GMP-140, a Platelet alpha-granule Membrane Protein, is also Synthesized by Vascular Endothelial Cells and is Localized in Weibel-Palade Bodies. *J Clin Invest* July 1989; 84(1): 92-99.
 68. Berman CL, Yeo EL, Wencel-Drake JD, Furie BC, Ginsberg MH, Furie B. A Platelet alpha granule Membrane Protein that is Associated with the Plasma Membrane after Activation. Characterization and Subcellular Localization of Platelet Activation-Dependent Granule-External Membrane Protein. *J Clin Invest* July 1986; 78(1): 130-137.
 69. Hsu-Lin S, Berman CL, Furie BC, August D, Furie B. A Platelet Membrane Protein Expressed during Platelet Activation and Secretion.

- Studies Using a Monoclonal Antibody Specific for Thrombin-Activated Platelets. *J Biol Chem* July 1984; 259: 9121-9126.
70. Bonfanti R, Furie BC, Furie B, Wagner DD. PADGEM (GMP140) is a Component of Weibel-Palade Bodies of Human Endothelial Cells. *Blood* April 1989; 73(5): 1109-1112.
 71. Geng JG, Bevilacqua MP, Moore KL, McIntyre TM, Prescott SM, Kim JM, Bliss GA, Zimmerman GA, McEver RP. Rapid Neutrophil Adhesion to Activated Endothelium Mediated by GMP-140. *Nature* 22 Feb 1990; 343: 757-760.
 72. Lorant DE, Topham MK, Whatley RE, McEver RP, McIntyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA. Inflammatory Roles of P-Selectin. *J Clin Invest* August 1993; 92(2): 559-570.
 73. Varki AP. The Screening Review System: Fair or Foul? *J Clin Invest* May 1994; 93(5): 1871-1874.
 74. Tedder TF, Steeber DA, Chen A, Engel P. The Selectins: Vascular Adhesion Molecules. *Faseb J* 1995; 9: 866-873.
 75. Rosen SD, Bertozzi CR. The Selectins and their Ligands. *Curr Opin Cell Biol* Oct 1994; 6(5): 663-673.
 76. McEver RP, Moore KL, Cummings RD. Leukocyte Trafficking mediated by Selectin-Carbohydrate Interactions. *J Biol Chem* May 1995; 270: 11025-11028.
 77. Katayama M, Handa M, Ambo H, Araki Y, Hirai S, Kato I, Kawai Y, Watanabe K, Ikeda Y. A Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Human GMP-140/P-Selectin. *J Immunol Methods* August 1992; 153(1-2): 41-48.
 78. Belgin R. Antisperm Antikor Saptanmasında Elisa ve Indirekt Immunofloresans Yöntemlerinin Karşılaştırılması. *Turkish Journal of Infection* 2003; 17(1): 81-84.
 79. Leeuwenberg JFM, Smeets EF, Neefjes JJ, Shaffer MA, Cinek T, Jeunhomme TMAA, Ahern TJ, Buurman WA. E-Selectin and Intercellular Adhesion Molecule-1 are Released by Activated Human Endothelial Cells in Vitro. *Immunology* Dec 1992; 77(4): 543-549.
 80. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett ATK. Histological Changes Occurring in the Contralateral Testes of Prepubertal Rats

- Subjected to Various Durations of Unilateral Spermatic Cord Torsion. *J Urol* May 1985; 133(5): 906-911.
81. Johnsen SG. Testicular Biopsy Score Count - a Method for Registration of Spermatogenesis in Human Testes: Normal Values and Results in 335 Hypogonadal Males. *Hormones* 1970; 1(1): 2-25.
 82. Zappi E, Shulman S. Early Histological Changes in Experimental Contralateral Epididymo-orchitis in the Rabbit. *Journal Reprod Fert* Jan 1974; 36: 23-28.
 83. Avlan D, Erdouğan K, Çimen B, Düşmez Apa D, Cinel İ, Aksöyek S. The Protective Effect of Selenium on Ipsilateral and Contralateral Testes in Testicular Reperfusion Injury. *Pediatr Surg Int* 2005; 21(4): 274-278.
 84. Demir A, Türker P, Önel FF, Sirvanci S, Findik A, Tarcan T. Effect of Experimentally Induced Escherichia Coli Epididymo-Orchitis and Ciprofloxacin Treatment on Rat Spermatogenesis. *International Journal of Urology* March 2007; 14(3): 268-272.
 85. Ludwig M, Johannes S, Bergmann M, Failing K, Schiefer HG, Weidner W. Experimental Escherichia Coli Epididymitis in Rats. A Model to Assess the Outcome of Antibiotic Treatment. *BJU Int* Dec 2002; 90(9): 933-938.
 86. Mazumdar S, Levine A. Antisperm Antibodies: Etiology, Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment. *Fertil Steril* Nov 1998; 70(5): 799-810.
 87. Cerasaro TS, Nachtsheim DA, Otero F, Parsons CL. The Effect of Testicular Torsion on Contralateral Testis and the Production of Antisperm Antibodies in Rabbits. *J Urol* 1984; 132(3): 577-579.
 88. Heindel RM, Pakyz RE, Reinking LN, Cosentino JM. The Effect of Various Degrees of Unilateral Spermatic Cord Torsion on Fertility in the Rat. *J Uro* August 1990; 144(2 Pt 1): 366-369.
 89. Karagüzel G, Tanyel FC, Kılınç K, Büyükpamukçu N, Hiçsönmez A. The Preventive Role of Chemical Sympathectomy on Contralateral Testicular Hypoxic Parameters Encountered during Unilateral Testicular Torsion. *Br J Urol* Oct 1994; 74(4): 507-510.
 90. Flaumenhaft R. P-Selectin: Basic Aspects. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* 1998; 6(2): 93-102.

91. Gallatin WM, Weissman IL, Butcher EC. A Cell-Surface Molecule Involved in Organ-Specific Homing of Lymphocytes. *Nature* 7 July 1983; 304: 30-34.
92. Butcher EC. Leukocyte-Endothelial Cell Recognition: Three (or More) Steps to Specific City and Diversity. *Cell* Dec 1991; 67(6): 1033-1036.
93. Dore M, Korthuis RJ, Granger DN, Entman ML, Smith CW. P-Selectin Mediates Spontaneous Leukocyte Rolling in Vivo. *Blood* August 1993; 82(4): 1308-1316
94. Mruk DD, Silvestrini B, Mo MY, Cheng CY. Antioxidant Superoxide Dismutase - A Review: Its Function, Regulation in the Testis, and Role in Male Fertility. *Contraception* April 2002; 65(4): 305-311.
95. Homeister JW, Zhang M, Frenette PS, Hynes RO, Wagner DD, Lowe JB, Marks RM. Overlapping Functions of E- and P-Selectin in Neutrophil Recruitment during Acute Inflammation. *Blood* Oct 1998; 92(7): 2345-2352.
96. Ley K. The Role of Selectins in Inflammation and Disease. *Trends in Molecular Medicine* June 2003; 9(6): 263-268.
97. Lysiak JJ, Nguyen QT, Kirby JL, Turner TT. Ischemia-Reperfusion of the Murine Testis Stimulates the Expression of Pro Inflammatory Cytokines and Activation of c-jun N-terminal Kinase in a Pathway to E-Selectin Expression. *Biol Reprod* July 2003; 69(1): 202-210.
98. Luo J, Paranya G, Bischoff J. Noninflammatory Expression of E-Selectin is Regulated by Cell Growth. *Blood* June 1999; 93(11): 3785-3791.
99. Ley K. Adhesion Molecules Functions and Inhibitor. Birkhauser, Basel-Boston-Berlin, 2007.
100. Swartz DE. Alterations of Polymorphonuclear Neutrophil (PMN) Recruitment in a Murine Model of Peritonitis and a Secondary Injury Master of Science in Experimental Surgery. L.D. MacLean Surgical Research Laboratories Division of General Surgery Department of Surgery McGill University, Montreal, 1999