



T.C.

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**VARİKOSEL VE VARİKOSELEKTOMİ’NİN OLUŞTURDUĞU
ANATOMİK DEĞİŞİKLİKLERİN İNSAN VE HAYVANDA
SPERM PARAMETRELERİNE VE SPERME ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

SELVA ŞEN

ANATOMİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. ALPER ATASEVER

İKİNCİ DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi SEDA KARABULUT

İSTANBUL – 2022

TEZ ONAY FORMU

Kurum : İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın seviyesi : Yüksek Lisans () Doktora (X)

Anabilim Dalı : Klinik Anatomi

Öğrenci : Selva ŞEN

Tez Başlığı : Varikozel ve Varikoselektomi'nin Oluşturduğu Anatomik Değişikliklerin İnsan ve Hayvanda Sperm Parametrelerine ve Sperme Etkilerinin Araştırılması

Sınav Yeri : İstanbul Medipol Üniversitesi Güney Kampüs

Sınav Tarihi : 15.03.2022

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve nitelik yönünden Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Kurumu

İmza

Prof. Dr. Alper Atasever

İstanbul Medipol Üniversitesi

Sınav Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Bayram Ufuk ŞAKUL

İstanbul Medipol Üniversitesi

Doç. Dr. Tuğrul ÖRMECİ

İstanbul Medipol Üniversitesi

Do. Dr. İlke Ali GÜRSES

Koç Üniversitesi

Prof. Dr. Mustafa AKTEKİN

Acıbadem Üniversitesi

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/....., sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Neslin EMEKLİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlamasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içerisinde elde ettiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Selva ŞEN



TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında ve lisansüstü eğitim hayatım boyunca her zaman destek olan değerli danışmam hocam Prof. Dr. Alper Atasever'e ve bu tez çalışmasının oluşumunda ve yürütülmesinde desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli danışman hocam, Dr. Öğr. Üyesi Seda Karabulut'a

Lisansüstü eğitimim boyunca yardımcı olan, fikir ve görüşleriyle bana katkıda bulunan Prof. Dr. Bayram Ufuk ŞAKUL'a, Doç. Dr. Neslihan Yüzbaşıoğlu'na,

Tez çalışmamda görüş ve destekleriyle katkıda bulunan Prof. Dr. Ege Can Şerefoğlu, Doç. Dr. Tuğrul Örmeci, Süleyman Sadi Civan ve Cengiz Çelik'e,

İstanbul Medipol Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı lisansüstü öğrencileri Can Atambay ve Ceren Erdem Altun'a ve Arş. Gör. Oya Korkmaz, Öğr. Gör. Volkan Bülbül, Dr. Öğr. Üyesi Bircan Kolbaşı'na,

İstanbul Medipol Üniversitesi MEDİTAM ekibinden Ekrem Musa Özdemir, Ali Şenbahçe, Barış Cebeci ve Ömer Kuzu'ya,

İstanbul Medipol Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı üyeleri Dr. Öğr. Gör. Çağrı Çakıcı ve Arş. Gör. Feyza Bayramoğlu'na,

Tez çalışmam boyunca sabırla desteğini esirgemeyen başta Arş. Gör. Bahar Tekin Kaya olmak üzere tüm Medipol Üniversitesi Anatomi Anabilim Dalı öğretim ve araştırma görevlisi arkadaşlarım ve İstinye Üniversitesi Anatomi Anabilim Dalı'nda görev yapan Öğr. Gör. Ahmet Taha Demirbaş ve Yeni Yüzyıl Üniversitesi Anatomi Anabilim Dalı'nda görev yapan Arş. Gör. Zekiye Karaca Bozdağ'a ve eğitim hayatım boyunca desteklerinden dolayı aileme teşekkürlerimi sunarım.

Selva ŞEN

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY FORMU	i
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI	ii
TEŞEKKÜR	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	viii
RESİMLER LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER.....	6
4.1. Erkek Üreme Sistemi Anatomisi	6
4.1.1. Testis	6
4.1.2. Epididymis	8
4.1.3. Ductus deferens (Vas deferens)	9
4.1.4. Vesicula seminalis	10
4.1.5. Ductus ejaculatorius.....	10
4.1.6. Prostata.....	10
4.1.7. Glandula bulbourethralis (Cowper bezi).....	12
4.1.8. Penis.....	12
4.1.9. Urethra masculina	13
4.1.10. Scrotum.....	14
4.1.11. Funiculus spermaticus.....	15
4.1.12. Erkek üreme sistemi dolaşımı.....	15
4.2. Sperm'in Yapısı ve Oluşumu	16
4.2.1. Spermatogenez.....	17
4.2.1.1. Spermatogonia fazı	17
4.2.1.2. Spermatozoid fazı.....	18
4.2.1.3. Spermatozoid fazı	18
4.2.2. Spermiasyon.....	19
4.3. Semen'in Yapısı ve Oluşumu.....	20
4.3. İnfertilite	22

4.4. Varikosel	22
4.4.1. Tanı ve değerlendirme	23
4.4.2. Etiyoloji	24
4.4.3. Patofizyoloji.....	25
4.4.3.1. Hipertermi	25
4.4.3.2. Oksidatif stres	26
4.4.3.3. DNA hasarı.....	27
4.4.3.4. Apoptoz	29
4.4.3.5. Diğer etkenler	30
4.4.4. Tedavi	30
4.4.5. Hücre içi sinyal yolları.....	32
4.4.5.1. PARP Yolağı.....	32
4.4.5.2. ERK 1/2 Yolağı	33
5. MATERYAL VE METOD.....	35
5.1. Çalışma Dizaynı	35
5.2. Hayvan Grubuna Yapılan İşlem ve Analizler	36
5.2.1. Deneysel varikosel modeli.....	36
5.2.2. Varikosektomi (VCT)	38
5.2.3. Semen analizi	39
5.2.4. Testis değerlendirilmesi	40
5.2.5. İmmunohistokimya analizi	41
5.3. İnsan Grubuna Yapılan İşlem ve Analizler	42
5.3.1. Ultrasonografi	42
5.3.2. Spermogram.....	46
5.3.3. Sperm kromatin yapısının gösterilmesi	46
5.3.4. DNA fragmantasyonunun belirlenmesi	47
5.3.5. Oksidatif stress analizi	48
5.3.6. İmmunohistokimya analizi	48
5.3. İstatistiksel Analiz	49
6. BULGULAR.....	50
6.1. Sıçan Grubuna Ait İncelme Sonuçları.....	50
6.1.1. Sperm parametreleri.....	50
6.1.2. Testis parametreleri.....	53

6.1.3. Testis histolojisi	57
6.1.4. PARP-1 ve ERK 1/2 proteinlerinin ekspresyonları	62
6.2. İnsan Grubuna Ait İnceleme Sonuçları	65
6.2.1. Ultrasonogafi bulguları	65
6.2.2. Sperm parametreleri.....	65
6.2.3. Kromatin yapısı analizi	73
6.2.4. DNA fragmentasyonu oranı (Sperm Chromatine Structure Assay-SCSA)	76
6.2.5. Olguların oksidatif stres parametreleri:	79
6.2.6. PARP-1 ve ERK 1/2 yolakları parametreleri:.....	80
7. TARTIŞMA	84
8. SONUÇ.....	105
9. KAYNAKLAR	106
10. ETİK KURUL ONAYI.....	131
11. ÖZGEÇMİŞ.....	135

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

a. : arteria

DAB: Diaminobenzidin

DNA: Deoksiribo nükleik asit

ERK: Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar

EVC: Deneysel Varikozel Modeli

lig. : ligamentum

MAPK: Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz

PARP: Poli (ADP-riboz) polimeraz

PBS: Fosfat Tampon Solüsyonu

RDUS: Renkli Doppler Ultrasonografi Görüntüleme

ROS: Reaktif Oksijen Türevleri

v. : vena

VCL: Varikozel

VCT: Varikozektomi

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 4.3.1. Semen analizi referans değerleri	21
Tablo 5.2.4.1: Johnsen skorlaması	41
Tablo 6.1.1: Sıçanlara ait sperm parametrelerinin ortalama ve standart sapma değerleri	51
Tablo 6.1.2.1. Sıçanlarda testis hacim ve ağırlıklarının ortalama ve standart sapma değerleri.....	54
Tablo 6.1.3.1: Sıçanlarda Johnsen skorları ortalama ve standart sapma değerleri....	61
Tablo 6.1.4.1. Sıçanlara ait PARP ve ERK 1/2 ekspresyonu ortalama ve standart sapma değerleri	62
Tablo 6.2.2.1: Olguların semen parametreleri ortalama ve standart sapma değerleri	68
Tablo 6.2.3.1. Olguların kromatin hasarı ortalama ve standart sapma değerleri.....	74
Tablo 6.2.4.1. Olguların DNA fragmantasyonu ortalama ve standart sapma değerleri	76
Tablo 6.2.5.1. Oksidatif stress parametreleri ortalama ve standart sapma değerleri ..	79
Tablo 6.2.6.1. Olguların PARP-1 ve ERK 1/2 proteinleri ekspresyonlarının ortalama ve standart sapma değerleri.....	81

RESİMLER LİSTESİ

Resim 5.2.1.1. Deneysel varikosel modeli işleminde abdominal insizyon	37
Resim 5.2.1.2. Deneysel varikosel modeli işlemi öncesi sol internal spermatic venin görünümü	37
Resim 5.2.1.3. Deneysel varikosel işleminde sol renal venin bağlanması	38
Resim 5.2.2.1. Deneysel varikosel modeli sonucu internal spermatic vende genişleme.....	39
Resim 5.2.3.1. Cauda epididymis'ten sperm alımı işlemi	40
Resim 5.3.1.1. Testis parankim yapısı ve kontürlerinin gri skala incelemesi	44
Resim 5.3.1.2. RDUS ile parankim kanlanması incelenmesi.....	44
Resim 5.3.1.3. Gri skala internal spermatic ven çapının ölçülmesi	45
Resim 6.1.2.1. Deneysel varikosel modeli oluşturulan sıçanlarda sağ ve sol testisin görüntüsü.....	55
Resim 6.1.2.2. Varikosel modeli oluşturulan 2 numaralı hayvanda testis hacimlerinin göreceli karşılaştırması.....	55
Resim 6.1.3.1. Kontrol grubuna ait sıçanda testis dokusunun histolojik incelemesi... 58	
Resim 6.1.3.2. Varikosel grubuna ait sıçanda testis dokusunun histolojik incelemesi 59	
Resim 6.1.3.3. Varikosektomi grubuna ait sıçanda testis dokusunun histolojik incelemesi.....	60
Resim 6.1.4.1. Sıçan spermalarında PARP-1 ve ERK 1/2 proteinleri ekspresyonları örnekleri	64
Resim 6.2.3.1. İnsan sperm hücrelerindeki kromatin yapı analizi örneği	75
Resim 6.2.4.1. Olgularda sperm Chromatine Structure Assay yöntemi ile DNA fragmentasyonunun gösterilmesi	78
Resim 6.2.4.2. Olguların DNA fragmentasyonunu analizi örneği	78
Resim 6.2.6.1. Olguların PARP-1 ve ERK 1/ 2 ekspresyonu analizi örnekleri	83

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 6.1.1.1. Sıçanlara ait sperm konsantrasyonu değerleri grafiği.....	51
Şekil 6.1.1.2. Sıçanlara ait ileri progresif motilite oranı grafiği	52
Şekil 6.1.1.3. Sıçanlara ait toplam motilite oranı grafiği.....	52
Şekil 6.1.2.3. Sıçanlarda testis hacimleri grafiği	56
Şekil 6.1.2.4. Sıçanlarda testis ağırlıkları grafiği.....	56
Şekil 6.1.3.4. Spermatogenez oranını gösteren Johnsen skorlama değerleri grafiği .	61
Şekil 6.1.4.2. Sıçan spermlerinde PARP-1 ve ERK 1/2 ekspresyonları grafiği	63
Şekil 6.2.2.1. Olguların semen hacmi değerleri grafiği	69
Şekil 6.2.2.2. Olguların sperm konsantrasyonu değerleri grafiği	69
Şekil 6.2.2.3. Olguların toplam sperm sayısı değerleri grafiği	70
Şekil 6.2.2.4. Olguların toplam ileri hareketli sperm oranı değerleri grafiği.....	70
Şekil 6.2.2.5. Olguların toplam yerinde hareketli sperm oranı değerleri grafiği.....	71
Şekil 6.2.2.6. Olguların toplam hareketsiz sperm oranı değerleri grafiği.....	71
Şekil 6.2.2.7. Olguların toplam motilite oranı değerleri grafiği	72
Şekil 6.2.2.8. Olguların normal morfolojiye sahip sperm oranı değerleri grafiği	72
Şekil 6.2.3.1. Olguların kromatin hasarı oranı grafiği	75
Şekil 6.2.4.1. Olguların DNA fragmentasyonu grafiği.....	77
Şekil 6.2.5.1. Olguların oksidatif stres indexi grafiği	79
Şekil 6.2.6.1. Olguların PARP-1 protein ekspresyonu değerleri grafiği	82
Şekil 6.2.6.1. Olguların ERK 1/2 proteini ekspresyonu değerleri grafiği	82

1. ÖZET

VARİKOSEL VE VARİKOSELEKTOMİ'NİN OLUŞTURDUĞU ANATOMİK DEĞİŞİKLİKLERİN İNSAN VE HAYVANDA SPERM PARAMETRELERİNE VE SPERME ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Varikozel plexus pampiniformis'teki venlerin anormall dilatasyonu olup, en sık infertilite sebebidir. Çalışmamızda varikozel hastalarında tanı kriterinde kullanılan ven çapı eşik değerleri ile testis yapısındaki değişiklikler, sperm fonksiyonel ve moleküler parametreleri birlikte ele alınarak, aralarındaki ilişkinin ortaya konulması ve varikozelektomi operasyonunun bu parametreler üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışma sıçan ve insan olmak üzere iki grupta tasarlandı. Sıçan grubu kontrol, varikozel ve varikozelektomi olmak üzere alt gruplara ayrıldı. Bu gruplar arasında testis ağırlığı, hacmi, histolojisi ve Johnsen skorlama sonuçları, sperm parametreleri, PARP-1 ve ERK 1/2 proteinlerinin ekspresyonları karşılaştırıldı. İnsan grubu kontrol, varikozel ve varikozelektomi operasyonu geçirmiş hastalardan oluşturuldu. Varikozel grubu ultrasonografi değerlendirilmesinde ölçülen ven çapı 3 mm'nin altında olanlar subklinik varikozel, 3 mm üzerinde olanlar klinik varikozel olarak alt gruba ayrıldı. Semen örneklerinde sperm parametreleri, DNA fragmentasyonu, kromatin yapısı, oksidatif stres, PARP ve ERK 1/2 proteinlerinin ekspresyonları karşılaştırıldı. Varikozel modeli oluşturulan ve varikozelektomi geçiren sıçanlarda sol testis hacmi, sperm sayısı ve motilitesi, Johnsen skoru kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma, PARP-1 ekspresyonunda artış bulundu. Varikozel ve varikozelektomi grupları arasında ise bu parametrelerde farklılık bulunmadı. İnsan olgularında kontrol grubuna göre varikozel ve varikozelektomi grubunda sperm konsantrasyon, sayı ve motilitesinde anlamlı derecede azalma, DNA fragmentasyonu, kromatin hasarı ve PARP-1 ekspresyonunda anlamlı derecede artış saptandı. Varikozel ve varikozelektomi grupları ve varikozelin subklinik ve klinik tipleri arasında bu parametrelerde farklılık bulunmadı. ERK 1/2 ekspresyonu ve oksidatif stres index'inde gruplar arasında farklılık bulunmadı. Varikozel, ven çapındaki değişimin derecesinden bağımsız olarak testis ve sperm yapısında hasara neden olur. Varikozelektomi operasyonun fonksiyonelliğinin geri kazanılmasında etkisi yoktur.

Anahtar Kelimeler: Sperm parametreleri, varikozel, varikozelektomi, ven çapı

2. ABSTRACT

EVALUATION OF ANATOMICAL CHANGES OF VARICOCELE AND VARICOCELECTOMY AND THEIR EFFECTS ON SPERM PARAMETRES AND SPERM STRUCTURE IN HUMANS AND RATS.

Varicocele is the abnormal dilatation of the veins in the plexus pampiniformis and is the most common cause of infertility. In this study, it is aimed to reveal the relationship between the threshold values of vein diameter and changes in testicular structure, functional and molecular parameters of sperm and to evaluate the effects of varicocelectomy operation on these parameters. The study was designed in rat and human groups. The rats subdivided into control, varicocele and varicocelectomy groups. Testis weights and volumes, histology of testis, Johnsen scoring, sperm parameters, expression of PARP-1 and ERK 1/2 compared among these groups. The human group consisted of control, varicocele and patients who had undergone varicocelectomy. Varicocele group was divided into two groups according to vein diameter: subclinic varicocele if vein diameter was less than 3 mm, and clinical varicocele if it was over 3 mm. Sperm parameters, DNA fragmentation, chromatin structure, oxidative stress, expressions of PARP and ERK 1/2 proteins were compared in semen samples. Left testicular volume, sperm count and motility, Johnsen score were significantly decreased, and PARP-1 expression was increased in rats which has varicocele and undergone varicocelectomy operation. There was no difference in these parameters between the varicocele and varicocelectomy groups. In human, sperm concentration, number and motility were significantly decreased, DNA fragmentation, chromatin damage and PARP-1 expression were significantly increased in varicocele and varicocelectomy groups compared to the control group. There was no difference in these parameters between the varicocele and varicocelectomy groups, and the subclinical and clinical types of varicocele. ERK 1/2 expression and oxidative stress index did not differ among groups. Varicocele causes damage to the testis and sperm structure, regardless of the degree of change in vein diameter. Varicocelectomy operation has no effect on recovery of these structures.

Keywords: Sperm parameters, varicocele, varicocelectomy, vein diameter

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü infertiliteyi “1 yıl veya daha uzun süreli korunmasız cinsel ilişkiden sonra klinik bir hamilelik elde edilememesi” olarak tanımlar (1).

Varikosel erkeklerde en sık rastlanan infertilite sebepleri arasında sayılmaktadır ve testis'ten kanı drene eden plexus pampiniformis içindeki venlerin anormal dilatasyonu olarak tanımlanır (2,3). Testisin tubuli seminiferilerinde, spermatogenez adı verilen spermatogonyumdan olgun sperm oluşumu gerçekleşir (4). Spermatogenez ısıya hassas bir süreç olup, testiküler ısının normal vücut ısısından 2 ila 6 derece daha düşük olması gereklidir. Arteria testicularis içerisindeki kanın ısı venöz plexus içerisindeki daha serin kan tarafından soğutulur. Varikoselde venöz damar çaplarının genişlemesinin bu soğutma mekanizmasını bozduğu ve testosteronun sağlıklı spermatogenez için gerekli olan testis ve epididymis hücrelerine transferini azalttığı düşünülmektedir (5).

Varikosel hastalığına bağlı olarak ortaya çıkan sperm anomalileri (sayı ve motilitede bozulma), testiküler hacimde azalma ve Leydig hücre disfonksiyonu infertiliteye yol açabilmektedir (6). Varikosel ile erkek infertilite arasında kesin ilişki ve bu etkilerin ortaya çıkmasına neden olan mekanizma ise tam olarak bilinmemektedir (7).

Türk Üroloji Derneği klavuzuna göre varikosel'in klinik değerlendirmesi hasta öyküsü ve en az iki semen analizini de içermeli ve renkli Doppler ultrasonografi ile de bulgular teyit edilmelidir (8). Ancak varikoselin ultrason değerlendirmesinde kullanılan parametreler ve tanı ölçütlerinde standardizasyon yoktur (9). Varikosel tanısı için yaygın olarak kabul edilen en büyük ven çapı için eşik değer 2 mm'dir (10). Avrupa androloji derneğinin 2020 kılavuzuna göre klinik varikosel tanısı için Valsalva manevrası sırasında genişleyen en büyük ven çapının 3 mm ve üzerinde olması gerekmektedir. Sonuç olarak ven çapındaki artışın varikosel tanısı için kullanımını literatürde pek çok çalışmada tartışılrsa da, bu yöntemin varikoselin seviyesini ve klinik sonuçları belirlemedeki güvenilirliği hala tartışma konusudur (11). Ayrıca ultrason bulguları, klinikte hastanın tanı ve prognozunu belirlemede sıklıkla kullanılsa da bu

bulguların varikoselin testis ve spermilere moleküler düzeyde etkileri ile ilişkisini araştıran çalışmaya rastlanmamıştır.

Varikosektomi pleksus pampiniformis'te yer alan damarların ligasyonu ve kollateral damarlar yoluyla venöz drenajın sağlanmasıdır. Literatürde yer alan çoğu çalışma varikosektominin semen parametreleri, sperm fonksiyonu, hamilelik sonuçları ve hormon seviyeleri üzerine olumlu etkisini bildirmesine rağmen komplikasyonlar, nüks ve infertiliteye etkisinin kesin olmaması nedeniyle cerrahi tedavinin hangi hastalar üzerinde uygulanması gerektiği tartışmalı konular arasında yer almaktadır (12–15). Literatürde varikoselin testis dokusunda oluşturduğu hasara bağlı spermatogenez sürecini etkileyerek infertiliteye sebep olduğu bildirilmiştir (16). Ancak varikoselin tedavisinde kullanılan varikosektomi operasyonunun testis'in normal morfoloji ve fonksiyonunu geri kazanmadaki etkinliği belirsizdir.

Oksidatif stres, çeşitli i ve dış etkenler nedeniyle reaktif oksijen türevleri (ROS) ve antioksidan mekanizmalar arasındaki dengenin (redox sistemi) bozulması sonucunda ortaya çıkan bir durum olarak tanımlanmaktadır (17). ROS sperm morfolojisinde bozulma, sperm motilitesinde azalma ve yetersiz spermatozoid birleşimi ve DNA hasarına neden olabilir (18). Literatürde varikozel hastalarında oksidatif stresin arttığı ve varikosektomi operasyonu sonrasında azaldığını bildiren pek çok çalışma bulunmaktadır (19–21). Deneysel varikozel modeli ile yapılan çalışmalarda vitamin E, üzüm çekirdeği gibi antioksidan maddelerin oksidatif strese bağlı testiküler doku hasarını iyileştirdiğine dair bazı araştırmalar mevcut olsa da, bu antioksidan maddelerin infertilite tedavisinde rolü ve etkinliği henüz netlik kazanmamıştır (22,23). Varikozeli olan infertil erkeklerde DNA hasarının tam mekanizmalarını anlamak için bu alanda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Programlanmış hücre ölümü olan apoptoz süreci varikoselin patofizyolojisinde önemli rol alır. Gonadal hipertermi, germ hücrelerini direkt etkileyerek spermatogenez'in belirli aşamalarında apoptoza neden olur (24). Literatürde varikozel hastalarında gelişmekte olan germ hücreleri, testiküler doku ve ejaküle edilen spermatozoa'da apoptoz seviyesinin yüksek olduğu bildirilmektedir (25,26).

Apoptoz ile ilişkilendirilen hücre içi sinyal yollarının bir grubu da mitogen-activated protein kinaz (MAPK) ailesini kapsar. Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz1 ve 2 (ERK 1/2), MAPK ailesinin hücre proliferasyonunu ve apoptozda rol aldığı bilinen üyeleridir (27). Literatürde p38-MAPK yollarının varikozel ile ilişkisini araştıran çalışmalar bulunmasına rağmen ERK1/2 yolağını araştıran çalışma bulunmamaktadır (26).

Poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP), DNA hasarının varlığını işaret eden nükleer bir enzimdir. Düşük düzeyde DNA hasarlarında PARP apoptoza karşı koruyucu rol oynar, ancak PARP'ın aşırı aktivasyonu apoptozu indükler (28). Deneysel varikozel modeli uygulanan sıçanlarda oksidatif stres ile birlikte PARP aktivasyonunda artış olduğu gösterilmiştir (29). Shiraishi ve ark. PARP ekspirasyonu ile varikozel derecesi arasında ilişki bulamazken, skrotal ısı ve apoptoz arasında pozitif ilişki saptamıştır (30). El-Domyati ve ark. fertile yaşlı ve varikozel hastalarında PARK aktivasyonunun genç fertile hastalara göre arttığını ve apoptozis'in spermatogenezin erken evresinde yükseldiğini bildirmiştir (31). Bahsi geçen çalışmalar testislerdeki germ hücrelerinde PARP proteinin ekspresyonunu incelemiş olup, semende DNA onarım mekanizması ve PARP aktivasyonunun rolü ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca yapılan literatür taramasında varikoselektomi sonrasında PARP'ın ekspresyonundaki değişiklikleri araştıran çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada varikozel hastalarında tanı kriterinde kullanılan ven çapı eşik değerleri ile testis boyut ve morfolojisindeki değişiklikler, sperm parametreleri, DNA fragmentasyonu, kromatin yapısı, PARP aktivasyonu ve ERK 1/2 protein ekspresyon seviyeleri birlikte ele alınarak, aralarındaki ilişkinin ortaya konulması ve varikoselektomi operasyonunun olası negatif etkileri azaltmadaki ya da ortadan kaldırmadaki rolünün değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Erkek Üreme Sistemi Anatomisi

Erkek üreme sistemi, bir çift üreme bezi olan testis (orchis), sperm iletim yolları olan epididymis, ductus deferens, ductus ejaculatorius, erkek üreme bezleri olan vesicula seminalis (glandula vesiculosa), glandula bulbourethralis (Cowper bezi), prostata (glandula prostatica), erektil yapıları ve urethra masculina'yı içeren penis ve testisleri içinde bulunduran scrotum'dan oluşur. Penis, scrotum ve urethra masculina dış genital organlar, diğerleri ise iç genital organlar olarak sınıflandırılır (4).

4.1.1. Testis

Testisler erkek üreme bezleri olup hem endokrin hem de ekzokrin fonksiyona sahiptir. Testisler sperm ve üreme sistemi fizyolojisini destekleyen androjen hormonların üretildiği yer olması bakımından erkek infertilitesi açısından kritik öneme sahiptir (32). Testis'ler yaklaşık 2-3 cm boyutlarında, 10-14 gr ağırlığında bir çift erkek temel üreme organıdır. Karın arka duvarında retroperitoneal gelişen testisler, gebeliğin yaklaşık 26. haftasında scrotum'a iner. Testis bu inişi sırasında periton, karın duvarı ve canalis inguinalis'den geçer (4,33).

Testis'in margo anterior ve posterior olmak üzere iki kenarı, extremitas superior ve inferior olmak üzere iki ucu, facies medialis ve lateralis olmak üzere iki yüzü vardır. Genellikle sol testis, sağ testise göre daha aşağı pozisyonda bulunur. Testis'lerin arka kenarı epididymis ile ilişkidir ve buradan testis'e giren-çıkan damar ve sinirler gibi diğer yapılar geçer (4).

Testis'ler dışta tunica vaginalis içte tunica albuginea olmak üzere iki adet bağ dokusu yapı ile çevrilidir. Testis'in scrotuma inişi sırasında canalis inguinalis'te peritonun bir parçası olarak bulunan processus vaginalis, testisi takip ederek testisin bir kısmını saran tunica vaginalis'i oluşturur (33). Tunica vaginalis, hem parietal hem de ince bir viseral tabakaya sahip seröz bir zarıdır. İki yaprak arasında az miktarda seröz sıvı bulunur. Tunica albuginea testisin kendisini kaplayan sert, beyaz, yoğun bağ

dokusu tabakasıdır. Arka kenarda testis içine mediastinum testis denilen bir bölme gönderir. Mediastinum testis'den tunica albuginea'ya uzanan septula testis denilen bağ dokusu uzantıları, piramit şeklindeki lobuli testis denilen bölmeleri oluşturur. Lobuli testis'lerde sperm üretilen tubuli seminiferiler ve testosteron üreten Leyding hücrelerini içeren bağ dokusu bulunur. Lobuli testis içerisindeki tübüller uzun ve kıvrıntılı olup, tubuli seminiferi contorti adını alır. Bu tüpler, lobuli testis'lerin mediastinum testis'e bakan kısımlarında birbiriyle birleşir ve sayıları azalır. Daha düz seyirli olduğu için bu tüplerin bu kısmına tubuli seminefi recti denir. Bu kanalların birbirleriyle anastomoz yapmasıyla rete testis (Haller ağı) denilen ağ yapı oluşur. Ductuli efferentes testis denilen kanallar rete testis'ten başlayıp mediastinum testis'in üst bölümünde tunica albuginea'yı delerek testisten dışarı çıkarlar. Ductuli efferentes testis'ler epididymis'te ductus epididymis'lere bağlanır (4).

Boşaltım kanallarında düz kas tabakası ilk olarak ductuli efferentes'lerde ortaya çıkar. Ayrıca kanallardaki epitel doku, silyum'lu yüksek prizmatik hücreler ve mikrovillüs içeren alçak prizmatik hücreler içerir. Tubuli seminiferilerden salgılanan sıvının büyük kısmı da bu kanallarda geri emilir. Bu kanallarda sperm, silyumların hareketi ve düz kasların kasılmasıyla taşınır (4).

Tubuli seminiferilerin içinde sustentaküler hücreler (Sertoli hücreleri) olarak adlandırılan destekleyici hücreler ve germ hücreleri olarak adlandırılan ve olgun sperme farklılaşan spermatogenik hücreler bulunur (32,34).

Sertoli hücreleri, seminifer epitel dokusunda bulunan sustentaküler hücreler adı da verilen destek hücreleridir. Sertoli hücreleri sperm üretimini kontrol eden ve germ hücrelerinin canlılığını kontrol eden sinyal molekülleri salgılar. Ayrıca spermin seminifer tüplerde taşınmasını sağlayan sıvıyı da salgılar (4,32,34).

Sertoli hücrelerini komşu spermatogenik hücreleri çevreler. Sertoli hücreleri arasındaki tight junction'lar kan testis bariyerini oluşturur. Bu bariyer, kan yoluyla taşınan maddelerin germ hücrelerine ulaşmasını ve germ hücrelerinin gelişmesine neden olan yüzey antijenlerinin kan dolaşımına karışarak otoimmün bir yanıtı yol açmasını önler (32).

Spermatogenik hücreler, komşu Sertoli hücreleri arasında ilerleyici gelişim sergileyen tabakalar halinde yerleşmiştir. Spermatogonyum'lar bu hücrelerin en immatür (olgunlaşmamış) tipidir ve seminifer epitelin bazal laminasının üzerine uzanırlar. Spermatogonia, birincil ve ikincil spermatositleri, daha sonra spermi üreten en matür (olgun) hücreler olan spermatidleri üretmek için mitoz ve mayoz bölünmeye uğrar. Spermatid'ler, Sertoli hücrelerinin apikal kısmına yerleşmişlerdir (32,34).

Seminifer epitel'i çevreleyen tunica propriya (peritübüler doku), tipik olarak fibroblasttan yoksun çok tabakalı bağ dokusudur. Bu tabakada bulunan miyoid hücreler, düz kas hücrelerine benzer özellik gösterir. Miyoid hücrelerin ritmik kasılmaları, peristaltik dalgalanmaya neden olarak spermatozoanın ve testiküler sıvının tubuli seminiferilerden geçişi sağlar (4,34).

Leyding hücreleri büyük, poligonal, eozinifilik hücrelerdir. Erken fetal dönemde farklılaşarak embriyolojik gelişim, cinsel olgunlaşma ve üreme fonksiyonu için gerekli testosteronu salgılar (4,34). Testosteron seviyesi hipofiz bezinden salgılanan Luteinizing Hormon (LH) ve Follicle-Stimulating Hormon (FSH) tarafından kontrol edilir (33).

4.1.2. Epididymis

Testislerin arka ve üst kutbunda uzanan, yaklaşık 7,5 cm hilal şeklinde bir yapıdır. Ductus epididymis denilen kıvrıntılı kanalların toplanmasıyla oluşur. Epididymis'in üst kısmına caput, orta kısmına corpus, alt kısmına cauda epididymis denir. Caput kısmında ductuli efferentes bulunurken, gövde kısmında bu kanallar ductus epididymis denilen oldukça kıvrımlı 4-6 m uzunluğunda tek bir kanala dönüşür. Spermier caput epididymis'ten giriş yaptıktan sonra düz kasların kontraksiyonuyla ductus epididymis'te ilerler.

Spermatozoa'ların testis'ten çıkış yaptıklarında fertilizasyon yetenekleri yoktur; ductus epididymis içerisinde seyri sırasında hareket ve fertilite yeteneği kazanarak olgunlaşırlar. Sperm'in fertilizasyon yeteneği kazanabilmesi için epididymis'in belirli kısımlarından geçmesi gerekmektedir. Epididymis'ten geçişi sırasında sperm'lerin kromatin yoğunluğu, ileri hareketliliği ve oosit penetrasyon

yeteneği artar. Sperm'in insan epididymis'inden geğişi 2-4 gün sürer (35,36). Ancak spermelerin bu fertilizasyon yeteneği daha sonra yüzey ilişkili dekapatizasyon faktörü eklenmesiye geri dönüşümlü olarak inhibe edilir. Sperm dışı üreme sistemine girdiğinde fertilizasyon yeteneğini tekrardan kazanır. Bu olaya kapatizasyon denir (4,32).

Olgun spermeler, ejakulasyona epididymis'te depo edilir. Diğer memeli türlerine göre, insan epididymis'inin sperm depo kapasitesi sınırlıdır, yapılan araştırmalar sağlıklı genç erkeklerde rezervuar kapasitesinin iki ila üç normal semen rneği üretmek için yeterli gamet sayısını içerdiğini göstermektedir (37).

Cauda kısmında, düz kas örtüsü yoğunlaşarak üç tabakalı hale gelir. Ejakülasyon sırasında epididymis'teki spermeler düz kas tabakasının şiddetli kasılmasıyla ductus deferens'e geçmeye zorlanır (4,32).

4.1.3. Ductus deferens (Vas deferens)

Cauda epididymis'ten sonra devamı olan 40-50 cm uzunluğunda muscular borudur. Dışta adventisya, ortada 1-1,5 mm düz kas ve ite mukoza tabakası bulunur. Kas tabakasında longitudinal ve circular kaslar bulunur.

Funiculus spermaticus içerisinde yukarı çıkıp canalis inguinalis'den geçerek önce karın boşluğuna, daha sonra pelvis boşluğuna girer. Mesane'nin yanından geçerek arkasına gelir. Burada ureterle aprazlaşır. Mesane'nin arkasında vesicula seminalis'e yaklaşarak prostata'ya doğru uzanır. Son kısmı ampulla ductus deferentis denilen genişlemeyi oluşturur. Ampulla kısmında spermiumların hareketini arttıran salgı salgılanır (4,32).

Ductus deferens'in işlevi, spermeleri epididymis'ten urethra'ya iletmektir. Bununla birlikte, sperm'lerin taşınması için sıvının salgılanmasına ve kanal lümeninden spermatozoan kalıntılarının emilmesine katkıda bulunur (38).

4.1.4. Vesicula seminalis

Mesaneğin arka yüzünde bulunan yaklaşık 5 cm uzunluğunda, 2,5 cm genişliğinde bir çift bezdir. Uzun eksenini yukarıdan aşağıya doğru uzanır. İç yapısı kıvrımlı kanallardan oluşur (4,32).

Vesicula seminalis'in salgısı, ejakulat'ın %50-60'ını oluşturur. Bu salgı, sperm için kadın üreme yolunda hareketini sağlamak için mitokondri tarafından ATP üretmede kullanılan büyük miktarlarda fruktoz içerir. Ejakülasyondan sonra fruktoz, fruktoliz adı verilen bir süreçte sperm tarafından tüketilir. Sperm sayısı ile seminal fruktoz seviyesi arasında ilişki vardır. Daha yüksek sperm sayılarında, fruktoliz daha güçlü olacaktır ve düşük seminal fruktoz konsantrasyonuna neden olacaktır. Azospermik ve oligospermik erkeklerde seminal fruktozun normospermik veya poliospermik erkeklere göre daha yüksek olmasının nedeni budur. Ayrıca seminal fruktoz konsantrasyonu hareketli sperm sayısı ile ters orantılıdır, bu da ereksiyondan sonra sadece hareketli sperm fruktoz tükettiğini düşündürür (39).

Bez içinde yer alan ductus excretorius denilen kanalı, ductus deferens'in kanalı ile birleşerek ductus ejaculatorius'u oluşturur (4,32).

4.1.5. Ductus ejaculatorius

Vesicula seminalis'in kanalı olan ductus excretorius ile ductus deferens'in prostata içinde birleşmesiyle oluşan yaklaşık 2 cm boyunda bir kanaldır. Sperm ve vesicula seminalis'in salgısını içeren seminal sıvıyı taşır. Urethra'nın pars prostata'sında colliculus seminalis'in her iki yanındaki deliklere açılır (4,32).

4.1.6. Prostata

Erkek genital sistemindeki bezlerin en büyüğüdür. Büyük bölümü bez, küçük bölümü de kas ve bağ dokudan oluşur. Diaphragma urogenitale ile mesane arasında yerleşmiştir ve arkasında rectum yer alır (4,32).

Şekli kestaneye benzeyen prostata'nın facies anterior, facies posterior, facies inferolateralis denilen üç yüzü, basis denilen taban ve apex denilen tepe kısmı bulunur.

Basis prostatae'ya mesanenin cervix kısmı oturur. Urethra bu kısımdan prostata'nın içerisine girer. Facies posterior'un üst kenarı yakınlarında bulunan çukur bölgeden ductus ejaculatorius'lar beze girer. Ductus ejaculatorius'lar daha sonra pars prostatica urethrae'nin orta kısmına açılır (4,32).

Urethra ile ductus ejaculatorius arasında kalan bölüme lobus medius denilir. Prostata'nın esas bölümünü oluşturan lobus dexter ve lobus sinister arka yüzün orta kısmında bulunan olukla birbirinden ayrılmıştır (4,32).

Prostata'yı dış taraftan saran capsula prostatica, birçok bölme göndererek bez dokusunu 30-40 lobcuğa ayırır. Lobçuklar, substantia glandularis denilen bez doku ile substantia muscularis denilen kas dokudan oluşmuştur. Bu bezlerin ductus prostaticus adı verilen kanalları birleşerek veya ayrı ayrı urethra'nın pars prostatica'sında bulunan sinus prostaticus denilen oluklara açılır. Bazıları da urethra'da bulunun colliculus seminalis denilen kabarıntıya açılır (4,32).

Prostata farklı histolojik bölgelere (periferik, transisyonel ve santral zone) sahip bir bezdir. Periferik bölge prostata'nın dış kısmının etrafını sarar ve bez dokusunun %70'ini oluşturur. Prostat kanserlerinin çoğunun çıkış yeridir. Transisyonel zon bezin yaklaşık %5'lik kısmıdır, urethra'nın pars prostatica'sının etrafını sarar. Yaşlı erkeklerin çoğunda bu bölgenin iyi huylu proliferasyonu (benign prostat hiperplazisi (BPH) görülür. Central bölge koni şeklinde, ductus ejaculatorius'ları çevreler ve basis prostata'yı oluşturur (40).

Prostata, seminal sıvıya katkıda bulunan hafif alkali, şeffaf bir salgı salgılar. Bu sıvı semen'in yaklaşık %20-30'unu oluşturur. Bu alkali salgı, vajina'nın asidik ortamını nötralize ederek sperm'lerin zarar görmesini engeller. Ayrıca bu salgının içinde bulunan maddeler semeni önce pıhtılaştırarak koitus sırasında spermilerin dışı üreme sistemine tutunmasını sağlar. Salgının içerisindeki prostate-specific antigen (PSA) ise semen'i tekrar akışkan hale getirerek (likefaksiyon) spermilerin hareketlilik kazanmasına olanak sağlar (34).

4.1.7. *Glandula bulbourethralis (Cowper bezi)*

Bezelye büyüklüğünde bir çift bezdir. Spatium perinei profundum içerisinde bulunur. Birçok lobcuktan oluşan bezin içindeki kanallar birleşerek ductus glandulae bulbourethralis denilen yaklaşık 2,5 cm uzunluğundaki tek bir boşaltıcı kanalı oluşturur. Bu kanal urethra'nın pars spongiosa'sına açılır (4).

Galaktoz salgılar. Berrak, mukus benzeri salgısı urethra'nın kayganlaştırılmasına yardım eder ve urethra'da kalan idrar kalıntılarını temizler (32).

4.1.8. *Penis*

Erkek kopulasyon (çiftleşme) organıdır. Penis ucundan pubis'e kadar bölümüne corpus penis, perineumda bulunan kısmına radix penis denir. Her iki bölümde, iki adet corpus cavernosum penis, bir adet corpus spongiosum penis olmak üzere üç adet silindirik yapı bulunur. Radix penis'te corpus cavernosum penis'lerin ramus ischiopubicus'lara yapışan kısmına crus penis denir. Corpus spongiosum penis ise perineal bölgede genişleyerek bulbus penis'i oluşturur. Bu yapı crus penis'lerin arasındaki aralığa oturur. Crus penis'leri m. ischiocavernosus'lar, bulbus penis'i ise m. bulbospongiosus örter. Bu yapılar perineum derisi tarafından örtülmüştür. Penis derisi koyu renkli ve incedir, deri altı yağ dokusu bulunmaz. Penis derisinin uç kısımda kendi üzerine katlanmasıyla oluşturduğu deriye preputium penis (sünnet derisi) denir (4,32).

Scrotum'daki yüzeysel fascia'nın devamı olan fascia penis superficialis tek yapraklıdır. Bu fasyaya, bir miktar düz kas da içerdiği için tunica dartos denir. Fascia profunda penis (Fascia penis, Buck's fascia), yüzeysel ve derin olmak üzere iki yapraktan oluşur. Bu fasyanın derin yaprağından penis içine giren bölmeler corpus cavernosum penis ve corpus spongiosum penis için kılıflar oluşturur. Corpus cavernosum penis'leri saran sağlam kılıfa tunica albuginea corporum cavernosum denir. Corpus cavernosum içerisinde trabeküller oluşturan ince düz kas tabakasıyla çevrili çok sayıda vasküler boşluklar içerir. Ereksiyon sırasında arteriae helicinae penis'den gelen kan bu boşlukları doldurarak penis'in düzleşmesini ve sertleşmesini sağlar (4,32).

Corpus spongiosum penis'i daha ince bir kılıf olan tunica albuginea corporis spongiosi sarar. Corpus spongiosum penis içinde urethra'nın pars spongiosa (penil urethra) bölümü yer alır. Corpus spongiosum penis'in genişlemiş ön ucuna glans penis denir. Glans penis'in ön ucunda vertikal bir yarık şeklinde ostium urethrae externum bulunur (4).

4.1.9. Urethra masculina

Mesane'nin çıkış kısmı olan ostium urethra internum'dan başlayıp, penis ucundaki ostium urethra externum'a kadar uzanan, yaklaşık 18-20 cm uzunluğunda, boru şeklindeki bir organdır. Penis'in gevşek olduğu durumlarda pozisyonu, curvatura infrapubica ve curvatura prepubica denilen iki eğrilik oluşturur. Erkek urethra'sı hem idrar hem de ejakulatın dışarı atılımını sağlar. Erkek urethra'sının içinden geçtiği yapılara göre adlandırılan 4 bölümü vardır (4):

Pars intramuralis (preprostatica): Mesane içindeki kısa bölümüdür (4).

Pars prostatica: Prostata içerisinde, yaklaşık 3 cm uzunluğundaki en geniş bölümüdür. Arka duvarında uzunlamasına seyreden crista urethralis denilen mukoza plica'sı bulunur. Crista urethralis'in ortasında colliculus seminalis denilen kabarık alan bulunur. Colliculus seminalis'in ortasında, kadınlardaki vagina'nın erkeklerde embriyolojik bir artığı olan utriculus prostaticus'un ağzı, yan taraflarında ise ductus ejaculatorius'ların açılış delikleri bulunur. Crista urethralis'in yan taraflarındaki sinüs prostaticus denilen çukurcuklara prostat bezinin kanalları açılır (4).

Pars membranacea: Urethra'nın, pelvis çıkışını kapatan diaphragma urogenitalis'in içerisinde kalan bölümüdür. Yaklaşık 1.5-2 cm uzunluğundadır. Apex prostata'dan bulbus penis'e kadar uzanır. İdrar çıkışını istemli olarak kontrol eden m. sphincter urethrae (m. sphincter externa), urethra'nın bu bölümünü sarar. Glandula bulbourethralis'ler de bu bölümün yan taraflarına yerleşmiştir (4).

Pars spongiosa: Diaphragma pelvis'in alt ucundan başlar, daha sonra corpus spongiosum penis'e girerek ostium urethra externum'a kadar uzanır. Yaklaşık 15 cm uzunluğundadır, penis'in yapısına uygun şekilde kıvrıntılı bir seyir alır. Glandula bulbourethralis'lerin kanalları başlangıcının ön kısmına açılır. Başlangıç kısmındaki

genişlemeye fossa bulbaris, uç kısmındaki genişlemeye fossa navicularis urethrae denir. Fossa navicularis'te bulunan kapakçığa valvula fossae navicularis (Guerin plikası) denir. Urethra'nın dışarı açılış deliği olan ostium urethra externum, erkek urethra'sının en dar yeridir (4).

4.1.10. Scrotum

Testis ve funiculus spermaticus'u içerisinde bulunduran deri, fibröz kılıflar ve biraz kas lifleri içeren torba şeklindeki yapıdır. Sağlı-sollu çift halinde bulunan scrotum, orta hatta raphe scroti ile kaynaşır (4,32).

Scrotum'un konumu, verimli sperm üretiminde önemli olan, testislerin vücut sıcaklığının 2 ila 4 ° C altında tutulmasını sağlar. Sol scrotum sağa göre biraz daha aşağıda durur (4,32).

Scrotum'un derisi çok incedir ve daha kahverengimsi renkte görünür. Cilt altında bulunan tunica dartos tabakasındaki düz kas olan m. dartos'un kasılması nedeniyle buruşuk bir görünümündedir. Üzerinde kalın kıllar, yağ ve ter bezleri bulunur (4).

Scrotum tabakalarında bulunan fasyalar karın ön duvarı kaslarının fasyal devamıdır. Dıştan içe doğru cutis, tunica dartos, fascia spermatica externa, fascia cremasterica, m. cremaster, fascia spermatica interna ve periton'un lamina internalis tabakalarından oluşur (4).

Fascia cremasterica ve m. cremaster'i, m. obliquus internus abdominis ve fasyası oluşturur. Bu kas uyluk iç yüzüne temas edildiğinde testisleri korumak için kasılarak scrotum'u karın duvarına doğru yaklaştırır. Buna cremaster refleksi denir. Soğuk havalarda ise m. cremaster ve tunica dartos birlikte testis'leri vücuda yaklaştırıp scrotum yüzeyini azaltarak ısının korunmasını sağlar. Sıcak havalarda ise scrotum gevşeyerek testis'leri vücuttan uzaklaştırır ve scrotal yüzey alanını arttırarak ısı kaybı sağlar (4).

4.1.11. Funiculus spermaticus

Karın duvarından testis'e kadar uzanan bir çift kordondur. İçerisinden damar, sinir ve kanallar geçer. Yaklaşık 15-20 cm uzuluğundadır, sol taraftaki sağa göre 1 cm daha uzundur. Bu kordon içerisinde a. testicularis, plexus testicularis, plexus pampiniformis (v. testicularis), a. ve v. ductus deferentis, plexus ductus deferentis, a. ve v. cremasterica, n. genitofemoralis'in r. genitalis'i, ductus deferens, m. cremaster ve lenf nodları bulunur. Bu yapıları dıştan fascia spermatica interna sarar (4).

4.1.12. Erkek üreme sistemi dolaşımı

Fetal dönemde abdominal boşlukta gelişen testis'in arterleri aorta abdominalis'ten köken alır. A. testicularis'ler aorta'dan a. renalis'lerin biraz aşağısından ayrılan bir çift damardır. Bu damarlar retroperitoneal olarak ilerler, a. iliaca externa'nın son bölümünü önden çaprazlar, anulus inguinalis profundus'tan canalis inguinalis'e girer. Daha sonra funiculus spermaticus içerisinden geçerek scrotum'a ulaşır. Tunica albuginea'yı delerek testis'i besler. A. testicularis'ten ayrılan dallar (rr. epididymales) epididymis'i besler. Ayrıca ureter'e (rr. ureterici) ve m. cremaster'e dallar verir (4).

Aorta abdominalis L4 seviyesinde a. iliaca communis adında iki dala ayrılır. Iliaca communis'ler alt ekstremitiyi besleyen a. iliaca externa ile pelvis'teki yapıları besleyen a. iliaca interna'ya ayrılır. Ductus deferentis'i besleyen a. ductus deferentis, a. iliaca interna'dan ayrılan a. umbilicalis'in dalıdır. Bu damar a. testicularis ile anastomoz yapar. A. iliaca interna'nın diğer bir dalı olan a. vesicalis inferior'dan ayrılan dallar (rr. prostatici) prostat bezi ve vesicula seminalis'i besler (4).

A. iliaca interna'nın dış genital organları besleyen dalı a. pudenda interna'dır. A. dorsalis penis ve profunda penis bu damarın terminal dallarıdır. A. profunda penis, corpus cavernosum penis'in merkezinde öne doğru ilerler, ereksiyon için önemli bir damardır. A. dorsalis penis, penis'in dorsal yüzünde fasyanın altında ilerler. Glans penis, penis derisi, preputium, tunica albuginea'yı besler ve a. profunda penis ile anastomoz yapar. A. pudenda interna'nın diğer dalı olan a. perinealis'ten ayrılan rr.

scrotales posteriores scrotum'u, a. urethralis'ten ayrılan a. bulbi penis glandula bulbourethralis'i besler (4).

Scrotum içindeki yapıların venöz drenajı v. testicularis dexter ve sinister (internal spermatic venler), deferential ven (vas deferens'in veni) ve external spermatic ven (cremasteric ven) tarafından sağlanır. Bu venlerin arasında pek çok anastomoz bulunmaktadır (41,42). Testis ve epididymis'ten çıkan venler birleşerek plexus pampiniformis denilen ven ağının ön grubunu, deferential ven orta, external spermatic ven ise arka grubunu oluşturur (5).

Plexus pampiniformis, funiculus spermaticus içerisinde a. testicularis'in etrafında bulunur. Plexus pampiniformis'teki venler birleşip sayılarını azaltarak sağ tarafta v. testicularis dextra, solda v. testicularis sinistra'yı oluşturur. V. testicularis dextra direkt v. cava inferior'a drene olurken, v. testicularis sinistra v. renalis sinistra aracılığıyla v. cava inferior'a drene olur. V. testicularis sinistra sol testis'in daha aşağıda olması ve bağlantı noktasının daha üst seviyede bulunması nedeniyle v. testicularis dextra'dan 8-10 cm daha uzundur (41).

Prostata'nın venleri plexus venosus prostaticus'u, vesicula seminalis'in venleri plexus venosus vesicalis'i oluşturur. Plexus venosus vesicalis ve deferential ven, vv. vesicales aracılığıyla v. iliaca interna'ya dökülür. External spermatic ven (cremasteric ven) ise, v. epigastrica inferior aracılığıyla v. iliaca externa'ya bağlanır (5,41).

4.2. Sperm'in Yapısı ve Oluşumu

Sperm vücuttaki çoğu hücreden daha küçüktür; olgun sperm yaklaşık 60 µm uzunluğundadır. Baş, boyun ve kuyruk kısımlarından oluşur (32,34).

Sperm başı yassı ve sivridir, çok az sitoplazmaya sahiptir ve haploid çekirdek içerir. Başın görevi DNA'nın korunması ve fertilizasyon sırasında oosit'e aktarılmasıdır. Nukleusun büyük kısmını saran akrozomal kep, fertilizasyon sırasında ovum'un zona pellusida'sının delinmesini enzimler içeren başın tepe kısmında bir veziküldür (32,34).

Baş ile kuyruğun birleştiği kısa bölüme boyun denir. Enerji deposu olan büyük helikal mitokondiri içerir. Boyun kısmı bağlantı parçası ve senteriol'lerden oluşur. Enerji sağlayan bol miktarda flagellum, boyundan ve orta parçadan sperm kuyruğu boyunca uzanan ve tüm sperm hücrelerinin hareket etmesini sağlayan kamçıya benzer yapıdır (32,34).

Sperm kuyruğu orta parça, esas parça ve son parça olmak üzere üç bölümden oluşur. Orta parçadaki mitokondiriler hareket için gerekli adenozin trifosfat (ATP) üretir. En uzun kısım olan esas parça, aksonem ve fibröz kılıftan oluşur. Son parça sadece aksonemal kompleks'i içerir. Aksonemal kompleks, kuyruğun hareketini sağlar. İki adet merkezi mikrotübül ve dokuz adet çevresel mikrotübül çiftinden oluşur. Çevresel mikrotübül'ler birbirine nexin filament'leriyle bağlanmıştır ve üzerinde iç-dış dynein kolları bulunur. Dynein kolları, mitokondride oluşan kimyasal enerjiyi kinetik enerjiye dönüştürerek mikrotübül çiftlerinin birbiri üzerinden kayarak hareket etmesini sağlar. Çevresel mikrotübül çiftlerinin dışında dairesel olarak yerleşmiş dokuz adet dış kalın fiberler (outer dense fibers) bulunur. Bunlar kuyruğun hareketini düzenler, yoğunluk ve biçimini ayarlar (34,43).

Sperm erkek üreme sisteminde birkaç hafta, dişi üreme sisteminde ise 2-3 hafta canlı kalabilir. İnsan testis'inde günde yaklaşık 300 milyon sperm üretilir (34).

4.2.1. Spermatogenez

Spermatogonia ile başlayan ve olgun sperm üretimi ile sonuçlanan süreç spermatogenez denir. Erkeklerde puberteden andropoza kadar devam eden bu süreç, yaklaşık 40 ila 65 yıl gün sürer (44).

Tubuli seminiferi'lerde gerçekleşen spermatogenez, puberteden kısa süre önce pituitar gonadotropin seviyesinin artmasıyla başlar (32,34).

Spermatogenez üç fazdan oluşur:

4.2.1.1. Spermatogonia fazı

Spermatogonyum tubuli seminiferinin bazal laminasına bağlı en immatür germinal hücrelerdir. Primordial germ hücrelerinden köken alırlar, puberteye kadar

inaktiftirler. Tubuli seminiferilerde üç farklı Tip A açık, Tip A koyu ve Tip B olmak üzere üç farklı spermatogonyum bulunur. Tip A koyu spermatogonyumlar diğer spermatogenetik hücreler için kök hücre fonksiyonu görür ve bölünerek kendisi gibi Tip A koyu spermatogonyum veya Tip A açık spermatogonyum'u oluştururlar. Tip A açık spermatogonyumlar çok sayıda mitoz bölünme geçirerek sayılarını arttırlar, daha sonra bir kısmı Tip B spermatogonyum'lara farklılaşırlar. Tip B spermatogonyumların mitozla bölünüp farklılaşması sonucu primer spermatisitler oluşur. Spermatogonyum'lar ve mitoz bölünme ile oluşan kopyaları diploid'dir ($2n$), yani bireyin tüm 46 kromozomunu içerir (32,34).

4.2.1.2. Spermatisit fazı

Primer spermatisitlerin DNA'larını replike ederek birinci mayoz bölünmeyi geçirmesiyle, diploid sayıda kromozom içeren sekonder spermatisitleri oluşur. Sekonder spermatisit'lerin de ikinci mayoz bölünme geçirmesiyle spermatid oluşur. Böylece kromozom sayıları 23'e inmiş ve DNA miktarları azaltılmış haploid ($1n$) hücreler oluşur. Haploid olmasına rağmen, erken spermatid'ler, yuvarlak şekil, merkezi çekirdek ve büyük miktarda sitoplazma ile spermatogenez'in önceki aşamalarındaki hücrelere çok benzemektedir (32,34).

4.2.1.3. Spermatid fazı

Spermatid'lerin olgun spermatazoon'lara farklılaştığı fazdır. Spermatid'ler akrozom oluşması, kuyruk gelişmesi, çekirdek şekil ve büyüklüğünün değişmesi, kromatin yoğunlaşması ve sitoplazmasının azaltılması gibi çeşitli değişimlere uğrar (32).

a) Golgi evresi: Spermatidin sitoplazması Golgi kompleksi, mitokondriyonlar, bir çift sentriol, serbest ribozomlar ve düz endoplazmik retikulum tübülleri içerir. Endoplazmik retikulum, üretilen hidrolitik enzimler, Golgi kompleksine iletilir ve sonrasında değişime uğrayarak proakzomal granülleri oluşturur. Daha sonra bu granüllerin birleşmesiyle akrozomal vezikül oluşur. Akrozomal vezikülün yerleştiği bu bölge ön kutbu oluştururken, sentrioller arka uca yerleşir ve kuyruğun aksonem kısmını oluşturacak mikrotübülleri oluşturmaya başlarlar (44).

b) Başlık Fazı: Akrozomal vezikül genişleyerek büyür, nukleusun ön bölümünü şapka gibi kuşatır. Oluşan bu yapıya akrozomal kep denir (44).

c) Akrozom Fazı: Spermatidin yapısında en fazla değişikliğin görüldüğü aşamadır. Çekirdeğin distalindeki sentriolden çıkan mikrotübüller, flagellumu oluşturacak olan aksonemi meydana getirir. Nükleus yoğundur ve daha da yassılaşıp uzar. Akrozom apikal plazma membranına doğru kayarken, stoplazmadaki mikrotübüller akrozomdan spermatid'in arka kutbuna uzanan manşet denilen yapıyı oluştururlar. Daha sonra plazma membranının flagellum yüzeyini kaplamasıyla manşet kaybolur. Boyun bölümünde ve distalde mitokondriyonların dış kalın liflerin çevresini sarmalamasıyla mitokondriyon kılıfı oluşur. Bu kılıf kuyruğun orta parçasında yer alır. Orta parçanın distalinde esas parça olarak isimlendirilen bölgede iki fibröz kolon ve bunları bağlayan fibröz halkalardan oluşan fibröz kılıf yer alır. Bu yapı flagellumun sonuna kadar ilerler. Son parçada ise kısadır ve sadece aksolemenin mikrotübüllerini içerir (44).

d) Olgunlaşma Fazı: Spermatidlerin arasındaki protoplazmik köprülerin ortadan kalkmasıyla oluşan artık cisimcik denilen stoplazmik kısım Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir. Gelişmekte olan spermatosit ve spermatidler, ektooplazmik özelleşmeleri bağlantı kompleksleri ve tübülobulbar kompleksler aracılığı ile Sertoli hücrelerine bağlıdır. Olgunlaşmasını tamamlayan spermatidler, Sertoli hücreleri ile olan bağlantılarını koparır ve tübül lümenine geçiş yaparlar (45).

Spermatogenez ve spermiogenez sırasında küçük, dar, piriform, ikili veya üç baş, akrozomal defekt ve çift kuyruk oluşumu gibi anomaliler görülmesi sıktır. Eğer ejakulattaki spermatozanların en az % 50'si normal morfolojiye sahipse bu durum fertilitiyi etkilemezken bu oranın daha yüksek olması infertiliteye neden olabilir (44).

4.2.2. Spermiyasyon

Spermatogenez'den sonra oluşan geç spermatid'lerin tubuli seminiferilerden salıverilmesine spermiyasyon denir (34).

Tubuli seminiferi'lerden salınan sperm hücreleri hareketsizdir. Tubuli seminiferi'lerden taşınması Sertoli hücreleri tarafından salgılanan bir sıvı ile sağlanır

ve peritübüler hücrelerin oluşturduğu peristaltik dalgalarda taşınma işlemine yardım eder. Tubuli seminiferi'lerdeki sperm sırasıyla rete testis, ductuli efferentis ve ductus epididymis'e ulaşır ve epididymis'de depo edilir. Ejakulasyon sırasında spermler vesicula seminalis, prostata ve glandula bulbourethralis'in salgılarıyla karışarak ductus deferentisteki peristaltik kasılmalar ile ve urethra'dan geçerek penis ucundan semen ile dışarı atılır. Spermler dışı genital sistemine vagina'dan giriş yapınca vesicula seminalis'ten üretilen vesikülaz enzimi sayesinde semenin bir kısmı koagüle olarak vaginadan geri akışı engelleyen bir plak oluşturur. Ayrıca vesicula seminalis'ten semene verilen fruktoz spermler için besin ve enerji kaynağı oluşturur. Dışı genital sisteminde spermler sırasıyla canalis cervix ve cavitas uteri'den geçerek tuba uteri'naya ulaşır. Bu yolculuk sırasında uterus ve tuba uterina'nadaki düz kasların kasılması ve semen içerisindeki prostaglandinler spermin hareketine yardımcı olur (43,44).

Spermler oositi fertilize etme yeteneğini uterus ya da tube uterina'dan geçişleri sırasında kazanır. Oosit'e ulaşan ilk sperm hücresi önce oositin korona radiata'sını, sonra zona pellucida denilen oosit etrafındaki glikoprotein yapıyı geçmek için akrozom içerisindeki enzimlerini serbest bırakır. Oosit ve spermin hücre membranları birleştikten sonra, spermin baş ve kuyruğu oosit stoplazmasına girerek fertilizasyonu gerçekleştirir (43,44).

4.3. Semen'in Yapısı ve Oluşumu

Semen visköz, mat, opak, beyaz-krem renkli ve homojen görünümündedir. Semen'in pH'ı 7.2–8.0 arasındadır. Semen içeriğinde spermatozoonların yanı sıra epididymis, ductus deferens, vesicula seminalis, prostat, glandula bulbourethralis ve urethral bezlerin salgıları ve bir miktar lökosit vardır. Yaklaşık bir ejakulasyondaki miktarı 3-4 cc kadardır. Semen analizinde Dünya Sağlık Örgütü tarafından belirlenen referans değerler kullanılmaktadır (46) (Tablo 4.31.).

Tablo 4.31. Semen analizi referans değerleri

Parametre	Referans değer
Semen hacmi	≥ 1.5 ml
pH	>7.2
Likefasyon	15-60 dk
Viskozite	< 2 cm
Spermiyum konsantrasyonu	≥ 15 milyon/ml
Total spermiyum sayısı	≥ 39 milyon/ml
Motilite	$a+b \geq \%32$ veya $a \geq \%25$ a+b (ileri yavaş veya hızlı hareketli) c (yerinde hareketli) d (hareketsiz)
Normal morfoloji	$\geq \%14$
Lökosit	$<1 \times 10^6$ /ml
Vitalite	$> \%58$ veya üzerinde canlı spermiyum

Semen içerisindeki spermiyum sayısının, hareketinin ve řeklinin normal olması normozoospermi, sayısının dūřuk olması oligozoospermi (<15 milyon/ml), fazla olması polizoospermi, hiç spermiyum bulunmaması ise azoospermi olarak adlandırılır. Astenozoospermi, sperm hareketinin normal deęerden dūřuk olmasıdır. Teratozoospermi spermiyum morfolojisinin normal deęerden dūřuk olması ($<\%4$), oligoastenozoospermi spermiyum sayı ve hareketinin normal deęerden dūřuk

olmasıdır. Semen'deki spermium sayı, hareket ve morfolojisinin normal değerden düşük olması oligoastenoteratozoospermi (OAT) olarak adlandırılır (46).

4.3. İnfertilite

İnfertilite “cinsel olarak aktif, doğum kontrolü yapmayan bir çiftin bir yıl içinde spontan hamileliği sağlayamaması” şeklinde tanımlanır (1). Çiftlerin yaklaşık %25'i infertilite problemi yaşar, bu çiftlerin %15'i infertilite için medikal tedavilere başvurur. Ancak %5'i hala çocuk sahibi olamaz. Çocuk sahibi olamayan çiftlerin %50'sinde infertilite sebebi erkek kaynaklıdır (47). Dünya Sağlık Örgütü infertil çiftlerin değerlendirilmesinde erkek partnerin değerlendirilmesine öncelik verilmesini önermektedir (48). Erkek infertilitesi sebepleri arasında konjenital veya edinilmiş ürogenital anormaliler, enfeksiyonlar, skrotal ısı artışı (varikozel), endokrin bozukluklar, genetik anomaliler ve immünolojik faktörler sayılmaktadır. Vakaların %60-75'i ise idiyopatiktir (47).

4.4. Varikozel

Varikozel testis'e drene olan plexus pampiniformis, internal ve eksternal spermatic venlerin (v. testicularis ve v. cremasterica) anormal dilatasyonu olarak tanımlanır (2). İlk kez Antik Yunan'da Celcus tarafından birinci yüzyılda tanımlanmıştır (49). Türk-İslam literatüründe ilk resimli cerrahi kitabın yazarı olan Şerefeddin Sabuncuoğlu, Cerrahiyet'ül Haniyye (1483) adlı eserinde, hastalığı testis damarlarının bükülüp genişleyerek üzüm salkımına benzer hale gelmesi şeklinde tarif etmiştir. Bu kitapta hastalığın tedavisinde venler arasında siyah kan'ın kaldırılması için proksimal ve distal spermatic venlerin ligasyonu önerilmiştir (50).

Varikozel'in prevalansı çalışmalar arasında farklılık göstermektedir. Yaklaşık olarak %15 olarak bildirilmiştir. Ancak bu oran %3 ila %48 arasında değişmektedir. İleri yaşlardaki hastalarda bilateral varikozel görülme oranı daha yüksektir (51). Unilateral varikozel, sol internal spermatic venin anatomik olarak kapak yetmezliğine yatkınlığı nedeni ile büyük oranda sol tarafta görülür (52). Sol tarafta görülmesinin en önemli nedeni sol internal spermatic venin sağa göre daha dik açıyla açılmasıdır. Ancak

geleneksel olarak tek taraflı bir anatomik anormallik olarak kabul edilen varikosel'in bilateral prevalansının yüksek olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (53).

Varikosel çok eski tarihlerde hekimler tarafından tanımlanmasına rağmen oluşumundaki patofizyolojik mekanizma ve yansımaları günümüzde hala tartışılmaktadır (54).

Varikosel hastalarının çoğu fertil olmasına rağmen, varikosel infertilite en sık konulan infertilasyon tanısıdır. Erişkin erkeklerde varikosel oranı %10-15 iken, anormal semen analizi olan erkeklerde bu oranın %25,4 olduğu bildirilmektedir. Infertilite şikâyetiyle kliniğe başvuran hastalarda %30-40 oranında varikosel saptanır. Venöz reflü ve testis'lerde ısı artışının infertilite açısından önemli rol oynadığı düşünülse de, varikosel hastalarında spermatogenez'i etkileyen patofizyolojik mekanizma henüz tam açıklanmamıştır ve erkek infertilitesi üzerine kesin etkisi de tartışmalıdır (55).

4.4.1. Tanı ve değerlendirme

Varikosel tanılı infertil bir erkeğin değerlendirilmesi anamnez, fizik muayene ve semen analizini içerir. Semen analizi en az iki kez yapılmalı ve semen analizleri arasındaki süre en az 7, en fazla 21 gün olmalıdır (8).

Varikosel'in tanısı fizik muayene ile konulup, skrotal ultrason taraması ile de teyit edilebilir (47). Hasta ayakta ve supin pozisyonda değerlendirilir. Valsalva manevrası yapıldığında spermatik venler dolgunlaşıp palpe edilebilir veya görülebilir hale gelir. Subklinik varikosel sadece ultrason görüntüleme yöntemiyle belirlenebilir (8,47).

Gerektiğinde doppler steteskopu, termografi, skrotal ultrasonografi, sintigrafi ve venografi gibi ek değerlendirme yöntemlerine de başvurulabilir (8).

Venografi'ye alternatif olarak noninvaziv bir teknik olan Renkli Doppler Ultrasonografi (RDUS) cerrahi tedavinin planlaması aşamasında fonksiyonel anatomi ve çevre damar yapılarının belirlenmesinde faydalıdır. Testis hacmi, varikosel'e neden olan venlerin çapları ve reflü'nün hemodinamik şiddeti gibi parametreler

değerlendirilebilir (52). Özellikle pediatrik hastalarda RDUS tanı açısından daha belirleyicidir ve düzenli taramalarla varikosel'in testis büyümesine etkisi ortaya konulabilir (56). Sağ ve sol testis arasındaki hacim farkının %15-20 veya > 2cc olması cerrahi tedavi için kıstas olarak kullanılmaktadır (57).

4.4.2. Etiyoloji

Vena testicularis dextra ile sinistra'nın drenajı arasındaki anatomik farklılıkların sol tarafta varikosel gelişimi için biyomekanik yatkınlık oluşturduğunu düşündürmektedir. V. testicularis dextra, v. cava inferior'a dar bir açı ile v. testicularis sinistra ise v. renalis sinistra'ya dik bir açı ile bağlanır. Bu dik açı nedeniyle v. testicularis sinistra içerisindeki kan, sağ taraftakine göre daha fazla dirençle karşılaşır. Ayrıca v. testicularis sinistra colon descendens'in arkasından geçerken bağırsak içeriği tarafından baskıya uğrayabilir. V. renalis sinistra'ya, v. testicularis sinistra'nın yanı sıra v. suprarenalis sinistra da drene olmaktadır. Bu durum da sol tarafta drenaj yükünün artmasına sebep olmaktadır. Ayrıca v. renalis sinistra'daki negatif basınç, daha geniş çaplı olan v. cava inferior'a göre daha düşüktür. Bu yüzden v. testicularis sinistra'da kan kalbe doğru daha düşük bir emiş gücüne maruz kalır (4,5).

Anatomik yatkınlığı destekleyen bir diğer bulgu sağ tarafta unilateral varikosel gelişiminin nadir olmasıdır. Sağ tarafta varikosel genellikle tümör gelişimiyle ilişkilendirilse de, situs inversus ve v. testicularis dextra'nın sol taraftakine benzer şekilde v. renalis dextra'ya dökülmesi gibi venöz varyasyonlar sebebiyle de olduğu vakalar bildirilmiştir (58–63).

Internal spermatik venlerde kanın yerçekimine karşı drenajına yardım eden kapak sisteminin bozulması da varikosel nedeni olarak gösterilmektedir (64). Kapak anomalilerinin communican venlerle ilişkisine göre stop-type ve shunt-type olmak üzere iki farklı patofizyolojik patern tanımlanmıştır. Communican venlerin seviyesinin üzerinde kapak bozuklukları shunt-type, communican venlerin seviyesindeki kapak bozuklukları ise stop-type varikosel olarak tanımlanmıştır (5). Ancak Wishahi, otopsi ve venografi görüntüleri üzerinde yürüttüğü çalışmasında internal spermatik venler'de zaten kapakçık sisteminin bulunmadığını, dolayısıyla kapakların varikosel

oluşumunda bir faktör olarak ele alınmaması gerektiğini, ancak bazı kişilerde görülen çapraz bağlantıların (cross-communication) etken olabileceğini bildirmiştir (65).

Testis'in venöz drenaj sistemine baskıya neden olan nutcracker fenomeni'nin de sol varikosele neden olduğu bilinmektedir. V. renalis sinistra'nın aorta'dan çıkış noktasında v. mesenterica superior tarafından basıya uğraması veya v. iliaca communis sinistra'nın a. iliaca communis tarafından sıkıştırılması sonucunda da kan plexus pampiniformis'de göllenerek venlerin dilatasyonuna neden olabilir (66).

4.4.3. Patofizyoloji

Varikozel yaklaşık 2000 yıl önce tanımlansa da patofizyolojisi hala netlik kazanmamıştır (67). Varikozel'in üreme fonksiyonuna etki mekanizması tartışmalıdır ve multifaktoriyel olması muhtemeldir.

Varikozel'in patofizyolojisini açıklarken, varikozel oluşumuna neden olan sebepler, varikozelin testis fonksiyonunda ne tür değişiklikler oluşturduğu ve fertilité üzerine etkilerinin neler olduğu soruları aydınlatılmalıdır (41).

4.4.3.1. Hipertermi

Spermatogenez ısıya hassas bir süreç olup, testiküler ısının normal vücut ısısından 2 ila 4 derece daha düşük olması gereklidir. Testis'deki ısı artışı germ hücrelerinin metabolizmalarının bozulmasına, apoptoz'a, Sertoli hücrelerinin etkilenmesine, spermatogenez'e hasar verebilecek şekilde gonodotropin hormonlarının yoğunluğunun değişimine neden olabilir (41,68).

Plexus pampiniformis'in a. testicularis'in etrafında yer alması ters yönlü bir ısı transfer mekanizması oluşturur. A. testicularis içerisindeki kanın ısısı venöz plexus içerisindeki daha serin kan tarafından soğurulur. Böylece arterial kanın testis'te ısı artışına yol açması engellenir (69). Sağlıklı kişilerde scrotum ısısı ayakta durur pozisyonda, yatar pozisyona göre daha düşüktür. Varikozelde plexus pampiniformis'teki venlerin genişleyip kanın burada yoğunlaşması bu mekanizmayı bozarak testis'de ısı artışına neden olabilir (68).

Garolla ve ark. varikozel hastalarında scrotum ısısının daha yüksek olduğunu ve gün içerisinde yapılan aktivitelere bağı olarak scrotal ısı değişiminin sağlıklı kişilere göre daha az olduğunu göstermiştir. Ayrıca bu çalışmada varikozel hastalarında scrotal ısının sol tarafta sağa göre daha yüksek olduğu ve ısı artışının semen parametreleri ile korelasyon gösterdiği bulunmuştur (70). Bu bulguyu kanıtlar nitelikte, varikozel hastalarında, hücreleri ısı artışının oluşturduğu stresten koruyan ısı şok proteinlerinin ekspirasyonunda (HSP) artış bulunmuştur (24,71,72). Bu proteinlerin artışının spermatogenez sırasında apoptoz sürecini tetiklediği düşünölmektedir (24,73,74).

4.4.3.2. Oksidatif stres

Reaktif oksijen türleri (ROS), kararsız yapıda, son yörüngesinde eşlenmemiş elektrona sahip, oksijen içerikli moleküllerdir. Elektron sayılarını tamamlamak için, diğer moleküllerle çok kolay reaksiyona (oksidasyon) girerler ve bu sırada vücudumuzda büyük zincirli kimyasal reaksiyonlara neden olabilir.

ROS oksijen metabolizmasının yan ürünleri olarak üretilirler. Aslında bazı yapıların sentezi, çeşitli transkripsiyonel faktörlerin aktivasyonu, apoptoz ve farklılaşma gibi süreçler için hücre içerisinde fizyolojik seviyede ROS bulunmalıdır. Ayrıca bir dizi kinazı ve fosfatazı modüle ederek pek çok hücre içi sinyal yolağında da yer alırlar (75). Ancak ROS üretimi veya birikiminin normalden fazla olması proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi önemli hücresel yapılar üzerinde zararlı etkiler oluşturur. Sağlıklı bir metabolizmada ROS'un hücreye olumsuz etkileri çeşitli enzimatik ve non-enzimatik antioksidana dayalı stratejilerle dengelenir. (76,77). Enzimatik koruma sistemlerini süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve katalaz oluşturur. Non-enzimatik antioksidanların başlıcaları ise ürik asit, E ve C vitaminleri ile albümindir (78).

Oksidatif stres, hücreler ve dokularda ROS birikimi ile biyolojik bir sistemin bu reaktif ürünleri detoksifiye etme yeteneği arasındaki dengesizliğin neden olduğu bir durumdur. Oksidatif stress lipit peroksidasyonuna neden olarak plazma membranını eritip ve lipoproteinlerin yapısını bozabilir. Lipit peroksidasyonu sitotoksik ve mutajenik olan malondialdehit oluşumuna yol açar. Oksidatif stress

proteinlerin yapısını bozarak, enzimatik aktivitelerinin azalması veya kaybolmasına yol açar, vücut yaşlanma sürecini hızlandırır, başta kanser olmak üzere kronik ve dejeneratif birçok hastalığın ortaya çıkmasına neden olur (76).

Serbest oksijen radikalleri spermin hiperaktivasyonu ve kapasitasyonu gibi olaylarda normal bir fizyolojik role sahiptir. Ancak, insan spermiumları çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengindir ve bu nedenle reaktif oksijen maddeleri (ROS) saldırısına ve lipid peroksidasyonuna karşı hassastır. Semendeki reaktif oksijen ürünlerinin kaynağı spermatazoa ve fagositik lökositlerdir (78,79). Sağlıklı bireylerde seminal plazma, aşırı ROS üretiminin etkisini nötralize eden antioksidanlar içerir (17). Seminal plazma içerisindeki lökositlerin enflamasyon durumunda aktif hale gelmesi plazmadaki ROS miktarını artırıcı bir etki oluşturur. Spermin olgunlaşma sürecinde atılan artık sitoplazma ROS miktarının dengelenmesini sağlar. Bu nedenle baş anomali gibi anormal morfolojik yapıdaki spermier de oksidatif stresi artırıcı etki gösterir. Oksidatif stres sperm kromatin bütünlüğünün ve plazma membran yapısının bozulmasına, sperm motilisinde ve sperm-ooisit birleşim kapasitesinde azalmaya neden olabilir (80,81). Oksidatif stres, germ hücrelerinin yanı sıra tubuli seminiferi'nin bazal laminası'na ve Sertoli hücrelerine zarar vererek indirekt olarak fertilitiyi etkileyebilir (82). Infertilite problemi yaşayan kişilerde %25 oranında ROS artışı gözlenmiştir (83). Varikosel'de yüksek ROS oluşumu ve antioksidan konsantrasyonunun azalmasının spermde oksidatif stresi şiddetlendirdiği düşünülmektedir (84).

4.4.3.3. DNA hasarı

Deoksiribonükleik asit (DNA), iki polinükleotid zincirinden oluşan bir moleküldür. Her nükleotid bir deoksiriboz (5 karbonlu şeker) fosfat grubu ve dört farklı tipteki azotlu bazlardan oluşur. Nükleotidler fosfatlı şeker grupları arasındaki fosfodiester bağlarıyla birbirine bağlıdır. Purin (adenin ve guanin) veya pirimidin (sitozin ve urasil) yapısındaki bazlarsa birbirine doğru karşılıklı uzanır ve aralarındaki hidrojen bağlarıyla sabitlenerek çift sarmal yapıyı oluşturur. Gen, genetik bilginin aktarımından sorumlu DNA segmentidir. DNA'daki her üçlü baz sistemine kodon denir ve her bir kodon belli bir aminoasiti şifreler. Aminoasitler de proteinleri oluşturduğu için kodonların sıralaması, proteinlerdeki aminoasitlerin dizilimini belirler. Genetik bilgiyi taşıyan DNA, hücre nükleusuna sığabilmek için bükülüp

yoğunlaşmış kromatin yapısını alır. Kromatinin yapısında bulunan histon proteinleri gen bölgelerinin aktivasyonu ya da inhibisyonundan sorumludur. Kromatin içerisinde dört çift histon proteininin biraraya gelip oluşturduğu yapıya nükleozom denir. DNA ise nükleozomların etrafını dolanarak sarar. Gen ekspresyonu, DNA onarımı ve replikasyonu gibi olaylarda DNA ve nükleozom arasındaki bağlar çözülerek proteinlerin DNA'ya ulaşması sağlanır. Kromatin yoğunlaşması sırasında DNA yapısı açılarak sıkı toroidal kompleksler oluşturan histonlar geçiş proteinleri ve protaminlerle yer değiştirir (85–87).

DNA fragmantasyonu DNA iplikçiklerinin parçalanması ve ayrılmasıdır. Testiküler hasar, artmış apoptoz ve oksidatif stresin DNA fragmantasyonu oluşturarak infertiliteye neden olduğu bilinmektedir. Asit-baz dengesizlikleri veya yüksek ısı da hidrojen bağlarını kopararak (DNA denaturasyonu) DNA yapısını bozar (87).

Spermiumun DNA bütünlüğü fertilizasyon ve sağlıklı bir yavru gelişimi için çok önemlidir. Spermatogenez sırasında ortaya çıkan defektler sonucunda kromatin yapısı bozuk, DNA fragmantasyonu artmış, anormal morfolojiye sahip germ hücreleri oluşur. Normalde kusurlu germ hücreleri apoptoz ile yok edilerek hatalı kromatin yapıdaki germ hücrelerinin spermatozoaya farklılaşması engellenir. Ancak çeşitli etkenlerle başarılı bir apoptozun sağlanmaması daha fazla kusurlu sperm hücresinin oluşmasına yol açabilir (88). DNA onarımında kusurlu olan hücreler, aşırı DNA hasarı biriktirme eğilimindedir (28). İnfertil erkeklerde sperm DNA hasarı fazladır ve DNA bütünlüğü bozulmuştur. Spermatogenez sırasında varikoselin patofizyolojik etkileri DNA ve kromatin yapısını da etkileyebilir. DNA hasarlı bir spermatozoonun oositi döllemesi, embriyoda genetik hastalıkların ortaya çıkmasıyla sonuçlanabilir (89). Ayrıca DNA fragmantasyonunun fazla olması spontan gebe kalma veya yardımcı üreme teknikleri kullanılarak çocuk sahibi olma başarısını azaltır. Oksidatif stress spermatozoda DNA fragmantasyonu ve apoptotik yolları tetikleyebilir. Literatürde varikoselektomi operasyonunun seminal sıvıdaki oksidatif stresi ve DNA hasarında azalmayı sağlayabileceği bildirilmesine rağmen, bu konudaki çalışmaların sonuçları farklılık göstermektedir (90).

Günümüzde DNA fragmantasyonu sperm kromatin yapısı testi (SCSA), terminal deoksinükleotidil transferaz dUTP nick end labeling (TUNEL), sperm

kromatin dağılımı (SCD/Halo testi), aniline veya toluidine mavisi boyama yöntemleriyle gösterilebilmektedir (91).

4.4.3.4. Apoptoz

Apoptoz, hücrelerin programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanır ve bu süreç fizyolojik veya patolojik koşullar tarafından uyarılabilir. Apoptoz, germ hücrelerinin gelişimi sırasında fizyolojik olarak hasarlı spermilerin elimine edilerek hatalı genetik materyalin aktarılmasını engeller. Ayrıca hücre proliferasyonu ile hücre ölümü arasında dengenin kurulmasının sağlar (92).

Hücresinin büzülmesi, kromatin yoğunlaşması, DNA ve çekirdeğin parçalanması, sitoplazma ve organellerin yoğunlaşması gibi olaylar apoptoz sırasında gerçekleşen temel olaylardır. Apoptoz reseptör üzerinden (ekstrinsik) ve mitokondriyon üzerinden (intrinsik) olan yollar ile gerçekleşir. Apoptoz kapsaz (caspase) denilen enzimlerin aktivasyonu ile yürütülür ve bir yoldaki molekül diğerini etkileyebilir. Kapsazlar inaktif şekilde bulunur ve aktive olduklarında hiyerarşik düzen içinde çalışırlar. Kapsazlar hedef proteinlerinin yapısında değişiklik oluşturarak, apoptoz için gerekli sinyali meydana getirirler (87,92).

Radyasyon, hipoksi, hipertermi, toksinler, serbest radikaller ve enfeksiyonlar mitokondri zarına etki ederek apoptozu başlatırlar. Apoptoz ile ilişkilendirilen intrinsik sinyal yollarının bir grubu da mitogen-activated protein kinaz (MAPK) ailesini kapsar. MAPK yolları, transkripsiyon faktörlerini aktive ya da inaktive ederek transkripsiyonu etkilerler. Bu yollar, hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar (ERK), c-jun NH₂-terminal kinases (JNK) ya da stresle aktive olan protein kinazlar (SAPKs) ve p38 MAPK olarak sınıflandırılmaktadır (93,94).

Apoptoz yollarında dengesizlikler sperm DNA'sına hasar verip semen parametrelerini olumsuz etkileyerek infertilite'ye neden olabilir (95). Erkek germ hücrelerinde bu intrinsik (mitokondrial) sinyal yollarının bazılarının hipertermi veya hormonal bozukluklara bağlı apoptozda rol aldığı gösterilmiştir (96–99). Literatürde varikozel hastalarında gelişmekte olan germ hücreleri, testiküler doku ve ejaküle edilen spermatozoada apoptoz ve ilişkili bazı sinyal yolları seviyesinin yüksek

olduğu bildirilmektedir (100,101). Apoptoz sürecinin germ hücrelerinde azalmaya neden olmasının testis atrofisi ile de ilişkili olduğu düşünölmektedir (102).

4.4.3.5. Diğer etkenler

Plexus pampiniformis ile a. testicularis'in komşuluğu, testosteron gibi ufak moleküllerin pasif difüzyonla venden artere geçişini sağlar. Venöz basıncın bozulması arter ile ven arasındaki yoğunluk farkını bozarak spermatogenez için gerekli olan testosteron'un testis dokusuna geçişini etkileyebilir (103).

Arter ile ven arasındaki basınç dengesizliği testis dokusunun perfüzyonunu bozarak hipoksi ve nekroza yol açar. Venöz staza bağlı oklüzyonlar ve kan basıncındaki değişimler sonucu Sertoli ve Leydig hücrelerinin zarar görmesi de spermatogenez'i olumsuz etkiler. Bu durum aynı zamanda enflamatuar reaksiyonlara da yol açabilir ve kan-testis bariyerini bozarak antisperm antikörlerinin oluşumuna yol açar (16).

Varikozel ile diğer patofizyolojik mekanizmalar arasında renal ve adrenal metabolitlerin reflüsü, testiküler hipoksi, hyphothalamic-hypofisial gonadal aks sisteminin bozulmasına bağlı hormonal dengesizlikler, adrenal ve renal metabolitlerin renal venden spermatik vene retrograd akışı sayılmaktadır (104,105).

Varikozel hastalarından alınan testis biopsi örneklerinde Sertoli hücreleri, tubulus seminiferi ve germinal hücre yapısında bozulma sonucunda testis dokusunda atrofi gözlenmiştir (106). Guzel ve ark. ileri derecede testis atrofisi olan hastalarda sperm sayı ve motilitesinde azalma ile morfolojik değişikliklerin daha fazla olduğunu bildirmiştir (107).

Sonuç olarak varikozel'in zamanla testis doku ve fonksiyonunu bozarak infertilite nedeni olduğu düşünölmektedir.

4.4.4. Tedavi

Normal semen analizi saptanan erişkin erkeklerde tedavi önerilmemekte, yıllık semen analizleri ile takip önerilmektedir (8).

Erişkinlerde varikosel tedavisinin amacı fertilitenin korunmasıdır. American Society for Reproductive Medicine (ASRM) Practice komitesinin hazırladığı kılavuza göre fizik muayene sırasında varikosel'in palpe edilebilir olması, kadın partnerin fertil veya tedavi edilebilir infertiliteye sahip olması ve erkek partnerin semen parametrelerinin anormal olması durumunda tedavi düşünülmesi gerekmektedir (55).

Varikosel'in cerrahi olarak tamir edilmesi operasyonuna varikosektomi denir. Varikosektomi operasyonunda amaç, tüm internal spermatik ven dallarını bağlayarak, plexus pampiniformis'teki dilatasyona ve kanın reflüsüne engel olmaktır (67). Bu operasyon sırasında ductus deferens ve funiculus spermaticus'a dair arter ve lenf damarlarının korunmasına dikkat edilmelidir (8). Varikosektomi açık cerrahi, mikrocerrahi ve laparoskopik ve radyolojik cerrahi teknikleriyle yapılabilir. Girişim yerleri retroperitoneal, inguinal, subinguinal ve scrotal olabilir (54).

1. Açık retroperitoneal girişim: Anulus inguinalis hizasından girilerek internal spermatik venin ligasyonu amaçlanır (12). Kolay bir yöntem olması avantajıdır. Dezavantajı ise kollateral venlere ve operasyon bölgesinin altında kalan venlere ulaşılmasının mümkün olmamasıdır (66,108). Karın kasları kesildiği için tedavi sonrası iyileşme süresi uzundur (41). Diğer tekniklere nazaran hidrosel gelişme veya varikosel nüks oranları yüksektir (108).

2. Açık inguinal girişim: M. obliquus externus abdominis kasından kesi yapılarak internal ve eksternal spermatik venlere ulaşılabilir (12). Bu yöntemin dezavantajı ise hidrosel oluşturma riski olan lenf damarlarının ayırt edilmesinin zorluğudur. Hastalar tarafından post-op ağrı şikâyeti fazladır (41).

3. Açık skrotal girişim: Testiküler atrofi meydana getirmesi ve arterlere zarar verme riskinin fazla olması nedeniyle günümüzde kullanılmamaktadır (41).

4. Inguinal ve subinguinal mikro-cerrahi: Damarların net görünmesine ve ligasyonuna izin verdiği için komplikasyon ve nüks oranı daha azdır. Mikrocerrahi ile inguinal ve subinguinal girişim, hamilelik başarısını arttırması ve daha az hidrosel gelişimine sebebiyet vermesi nedeniyle en etkili tekniktir (12).

5. Laparoskopik cerrahi: Hastaların günlük yaşamlarına daha hızlı dönmesine olanak tanınması ve post-op daha az ağrı şikâyeti yaşanmasıyla tercih edilmektedir (12). Nüks oranı ve hidrosel riskinin diğer yöntemlere göre düşük olması bu tekniğin avantajlarıdır, ancak cerrahın deneyimini gerektirir (108).

6. Embolizasyon ve skleroterapi: Bu radyolojik yöntemlerin avantajı daha az invaziv olması ve küçük kollaterallere ulaşılabilmesidir. Ayrıca, lenf nodülleri zarar görmediği için hidrosel oluşmaz. Ancak, maliyeti ve başarısızlık ihtimali yüksektir (108).

Anormal semen parametrelerine sahip varikozel hastalarında varikoselektominin faydalı olduğu literatürdeki pek çok çalışma tarafından desteklense de varikoselektomi'nin fertiliteye etkisi ve hamilelik başarısına etkisi tartışmalıdır (12,84,108,109). Günümüzde, varikozel tamiri kararında genellikle testis asimetrisinin %10'dan fazla olması kriter alınmaktadır (54).

Varikoselektomi'nin en sık görülen komplikasyonu hidrosel gelişimidir. Kullanılan tekniğe göre %0.29- 7.58 oranında hidrosel görüldüğü rapor edilmiştir. İyileşme zamanı 1-2 günden 2 haftaya kadar sürebilmektedir. Varikoselektomi sonrası serum testosteron seviyelerinde düzelme, çalışmalar arasında farklılık göstermektedir (108).

4.4.5. Hücre içi sinyal yolları

4.4.5.1. PARP Yolağı

Hücrelerde DNA zincir kırıklarının varlığı, hücre döngüsü durmasını tetikleyen sinyal iletim yollarını aktive eder ve sonuçta hücrenin hayatta kalmasına veya programlanmış hücre ölümüne yol açan onarım mekanizmalarını harekete geçirir (110). Fizyolojik koşullar altında poli (ADP-riboz) polimeraz 1'in (PARP-1) ana işlevi, koruyucu bir rol oynayarak DNA hasarını tespit etmek ve onarmaktır. DNA'ya kısmi hasar söz konusu olduğunda, indüklenen PARP-1 zincir kırıklarını tespit eder ve onarır ve ayrıca transkripsiyonu baskılar, böylece hasarlı genlerin ekspresyonunu önler (111). PARP-1 ve PARP-2 eksikliği olan farelerin, DNA hasarına karşı oldukça hassas oldukları gözlenmiştir (110). Ancak aşırı DNA hasarı varlığında PARP aşırı aktive olur, aktive olan PARP DNA'ya erişimi için görevli bir enzim olan (ADP-riboz)

(PAR) senzetini katalize eder. Hasar onarıldıktan sonra PAR polimerleri, poli (ADP-riboz) glikohidrolaz (PARG) tarafından parçalanır. Bu işlem sırasında PARP ADP riboz parçalarının nikotinamidden (NAD⁺) alıcı proteine ve kendisine transferini hızla katalize eder. Bu durum hücre içi NAD⁺ ve ATP havuzlarının hızlı bir şekilde tükenmesine neden olarak glikoliz ve mitokondriyal solunum hızını yavaşlatır. Bu da hücrel işlev bozukluğu ve ölümle sonuçlanır (112). Bu temelde, PARP-1'in hücreleri ya bir hayatta kalma yoluna ya da apoptotik yola yönlendirmek için bir DNA hasarı detektörü olarak işlev görebileceği öne sürülmüştür (111).

PARP, DNA hasarına hücrel tepkilerde olduğu kadar genomik bütünlüğün korunmasında da çok önemlidir (113). Germinal hücreler defektlerin bir sonraki nesle aktarılabilme ihtimalinden dolayı özellikle DNA hasarına karşı hassastır. Bu nedenle mayoz bölünme geçiren spermatozoidlerde kalıtsal mutasyonları önlemek için yüksek düzeyde DNA onarım enzimleri ekspresyonu gözlenir. Sıçan spermijenezinde kromatin yeniden modelleme adımları sırasında uzayan spermatidlerde belirgin poli (ADP-riboz) polimer oluşumu gösterilmiştir. Spermijenezde kromatin yoğunlaşmasının en belirgin aşaması olan spermatid basamağında yüksek seviyelerde ADP-riboz polimeri gözlenmiştir. DNA zincir kırıklarının eksik onarımı, olgun spermatozoada genomik kararsızlığa yol açar ve bu da onların döllenme kapasitelerini bozar (111,114).

4.4.5.2. ERK 1/2 Yolağı

Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar (ERK), mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) ailesinin üyeleridir. ERK kaskadı hücre çoğalması, farklılaşması, tutunması, göçü ve hayatta kalması gibi süreçlerde çok önemli bir rol oynar. Bu nedenle gelişim, bağışıklık, metabolizma ve hafıza oluşumu gibi birçok fizyolojik olay için gereklidir. Bu yolağın özü, Raf (mitojen ile aktive olan protein kinaz), MEK (mitojen ile aktive edilen protein kinaz) ve ERK'ler (ERK 1 ve ERK 2) olmak üzere üç kinaz kaskadının aktivasyonundan oluşur (115). Ras/Raf/MEK/ERK kaskadı, hücre yüzeyindeki reseptörlerden gelen bilgileri gen ekspresyonuna ve proteinlerin düzenlenmesine entegre eder. Raf ve MEK, tek bir substrata sahip sitoplazmik kinazlar olarak tanımlanmıştır. Ancak, ERK birden fazla substratı fosforileze edebilir. ERK-1

ve ERK-2 her yerde eksprese ediliyor gibi görünmektedir. Profilasyon için bir miktar ERK ekspresyonu mutlaka gerekmektedir. Çok çeşitli hormonlar, büyüme ve farklılaşma faktörlerinin yanı sıra tümör teşvik edici maddeler bu yolu kullanır. Bu uyarıların çoğu RAS'ı aktive eder. Aktive edilmiş Ras, Raf kinazlara yüksek afinite ile bağlanmasına neden olan bir adaptör olarak işlev görür ve onların hücre zarına translokasyonlarını sağlar. Raf, MEK'in proteinlerinin fosforilasyonu ile aktivasyonunu sağlar. MEK hem treonin hem de tirozin (threonine and tyrosine) kalıntılarını fosforile edebilir. Aktivasyon döngüsünde bir -Thr-Glu-Tyr- motifinin fosforilasyonu yoluyla ERK-1 ve ERK-2'yi (p44 ve p42 MAPK olarak da adlandırılır) aktive ederler. Fosforilasyon, ERK 1/2 salınımını ve nihayetinde nükleer translokasyonu tetikler. Çekirdekte ERK'ler bir bağlama proteini tarafından tutulur (116). Aktif ERK'nin sitoplazmada tutulmasının hücre döngüsü ilerlemesini ve DNA replikasyonunun başlangıcını ortadan kaldırdığını gösterilmiştir (117).

ERK 1/2 ekspresyonunun farlerde spermatogenez sırasında mitotik profilasyona katılıyor olabileceği ve sonrasında sperm motilitesine dâhil olduğu düşünülmektedir (118). Ayrıca epididymis'in epitel hücrelerinde ERK 1/2 yolağının aktivasyonunu initial segment (IS) farklılaşmasını sağlar. IS tam olarak gelişemediğinde spermde flagellar açılışmalar, azalmış motilite gibi infertiliteye neden olabilecek deformasyonlar oluşur (119).

5. MATERYAL VE METOD

5.1. Çalışma Dizaynı

Bu çalışma İstanbul Medipol Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 25.09.2019 tarihli 59 no'lu kararı ve İstanbul Medipol Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 25.09.2019 tarihli 714 no'lu kararı ile onaylanmıştır. Çalışmada İstanbul Medipol Üniversitesi BAP desteğinden (proje no:2020/06) yararlanıldı.

Çalışmamızda Medipol Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi (MEDİTAM)'da üretilen, Wistar Albino cinsi, 250-500 gr ağırlığında, 8 haftalık genç fertile 17 rat kullanıldı. Tüm hayvanlar aynı besin ile beslenip, standart laboratuvar şartlarında, kontrollü ışıklandırma (12 saat ışık, 12 saat karanlık) ve sıcaklıkta (24°C) tutuldu. Sıçanlardan 12 tanesine deneysel varikozel modeli uygulandı, 5 tanesi kontrol grubu olarak ayrılarak hiçbir müdahalede bulunulmadı. Deneysel varikozel modeli işlemi uygulanan deneklerde modelin oluşması için 10 hafta beklendi. Bekleme süresinin ardından varikozel modeli oluşmadığı saptanan 1 hayvan çalışmadan çıkarıldı, model oluşan hayvanlardan 6 tanesine varikozektomi operasyonu yapıldı. Böylece hayvan modellemesinde kontrol grubu (kontrol n=5), varikozel grubu (VCL n=5) ve varikozektomi grubu (VCT n=6) olmak üzere üç grup oluşturuldu. Varikozektomi işleminin etkisinin oluşması için 8 hafta beklendi. Ardından karşılaştırmak amaçlı tüm gruplar sakrifiye edildi, testis ve semen örneklerinden toplanan veriler gruplar arasında karşılaştırıldı.

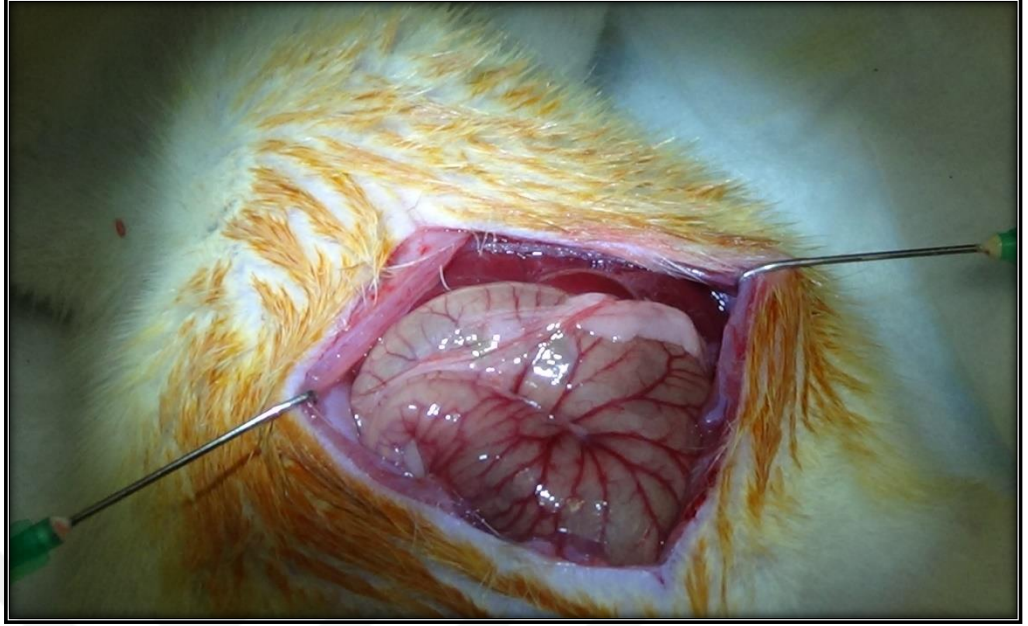
Çalışmadaki insan olguları infertilite nedeniyle başvuran, 20-45 yaş arasındaki hastalardan seçildi. Varikozel grubuna uzman ürolog tarafından fizik muayene ve anamnez sonucunda varikozel bulguları saptanıp, ultrasonografi değerlendirilmesinde ölçülen maksimum ven çapı 2 mm'in üzerinde olan ve reflü akım saptanan 20 hasta (VCL n=20) dahil edildi. Varikozel hastaları, yapılan ultrasonografi değerlendirmesinde ölçülen maksimum ven çapı 3 mm'in altında olanlar subklinik varikozel (Subklinik n=10), 3 mm'in üzerinde olanlar klinik varikozel grubu (Klinik

n=10) olmak üzere iki alt gruba ayrıldı (120,121). Varikoselektomi grubu, son 6 ay içerisinde varikoselektomi operasyonu geçiren 10 hastadan oluşturuldu (VCT n=10). Farklı şikayetlerle kliniğe başvuran aynı yaş ve BMI aralığında, muayane ve ultrason taramasında urogenital yapılarda herhangi bir anomali saptanmayan, normal sperm parametrelerine sahip sağlıklı 10 birey kontrol grubu (Kontrol n=10) olarak çalışmaya dahil edildi. Azospermi varlığı, sigara ve alkol öyküsü olan hastalar ve lökospermi bulguları (> 1 mil / mL lökosit), obezite (BMI >30 kg/m²), endokrin rahatsızlık, hormonal tedavi, üriner enfeksiyon, geçirilmiş operasyon öyküsü olan, scrotal ya da batın içi kan akımını etkileyebilecek kitleye sahip kişiler çalışmaya dahil edilmedi. Hasta anamnezinde ya da dosya kayıtlarına göre epididimit ya da epididimo-orşit, inmemiş testis öyküsü olan olgular çalışma dışı bırakıldı. Tüm hastalar çalışma hakkında bilgilendirildi ve yazılı onam formu alındı. Hastaların semen örneklerinden elde edilen veriler gruplar arasında karşılaştırıldı.

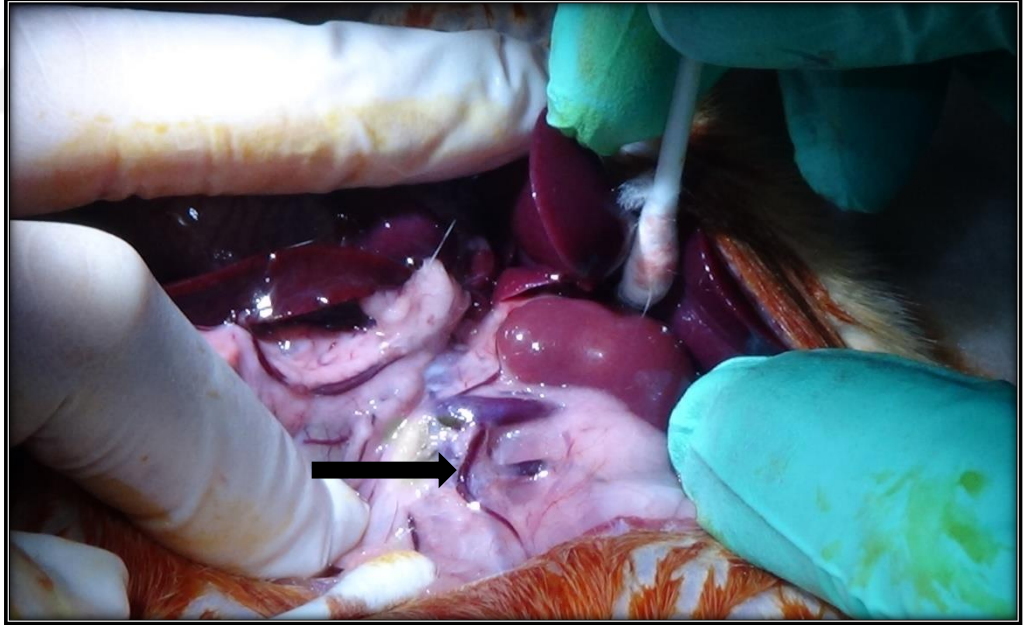
5.2. Hayvan Grubuna Yapılan İşlem ve Analizler

5.2.1. Deneysel varikozel modeli

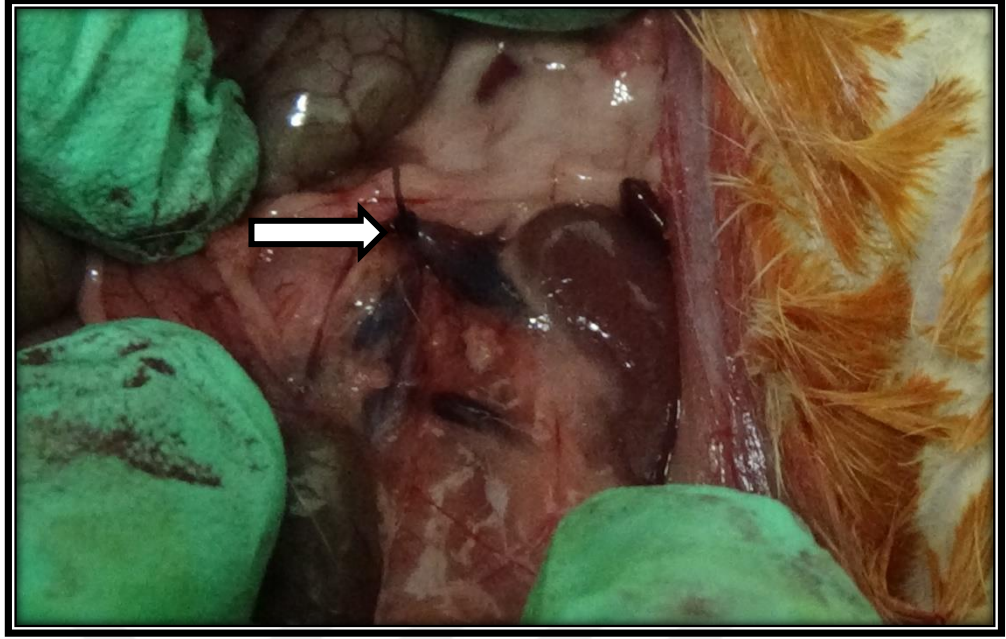
Model oluşturmada Saypol ve ark.'nın yöntemi kullanıldı (122). Sıçanlarda testis drenajı primer olarak internal spermatik venlerle sağlandığı için deneysel varikozel modelinde tercih edilmektedir. Sekiz haftalık erişkin sıçanlarda anaestezi için 60 mg/kg ketamin ve 7 mg/kg xylazin intraperitoneal enjeksiyon ile uygulandı. Abdominal duvar providon iodin ile boyandıktan sonra mid abdominal insizyon uygulandı (Resim 5.2.1.1). Colon ve intestinum yapıları sağ yana devrilerek sol ren, vena suprarenalis ve internal spermatik venin vena renalis'e giriş yeri görünür hale getirildi (Resim 5.2.1.2). Vena renalis etraftaki yağ ve bağ dokulardan temizlenerek serbestleştirildi. Daha sonra vena renalis sinistra'nın arkasından 4/0 ipek sutur geçirildi, vena renalis'e paralel olarak 0.85 mm'lik metal prob yerleştirildi ve venin arkasından geçirilmiş olan 4/0 ipek sutur ile bağlandı (Resim 5.2.1.3). Metal prob çekilerek vena renalis'te yaklaşık %50'lik daralma işlemi gerçekleştirildi. Vena renalis'teki daralma nedeniyle kanın akışı internal spermatik vene aktarılarak varikozel gelişimine neden oldu.



Resim 5.2.1.1. Deneysel varikozel modeli işleminde abdominal insizyon



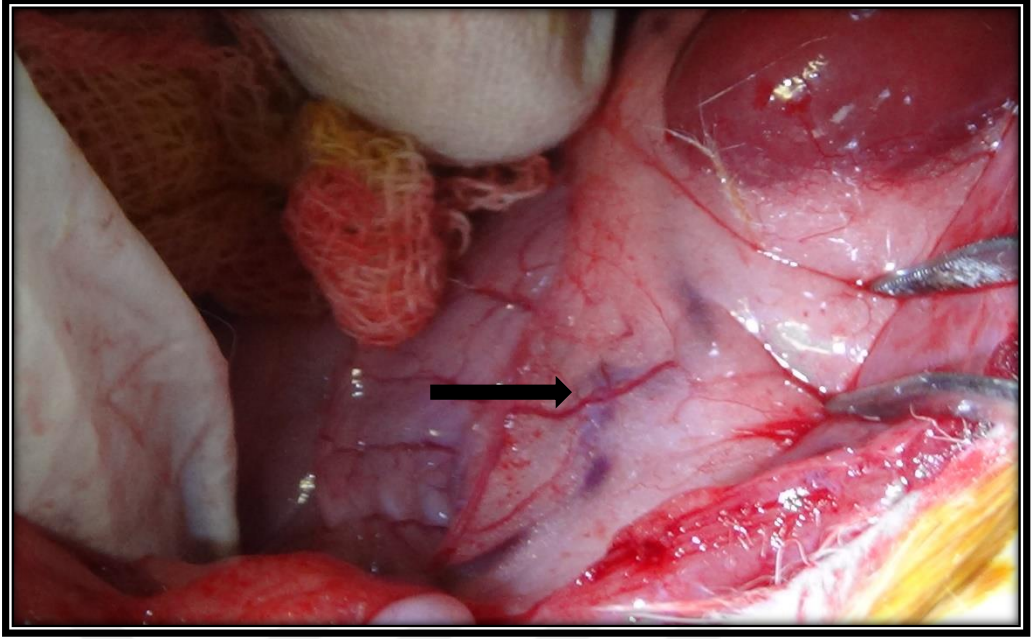
Resim 5.2.1.2. Deneysel varikozel modeli işlemi öncesi sol internal spermatik venin görünümü: Siyah ok işareti internal spermatik veni göstermektedir.



Resim 5.2.1.3. Deneysel varikozel işleminde sol renal venin bağlanması: Beyaz ok işareti renal venin daraltılması için atılan dikişini göstermektedir.

5.2.2. Varikoselektomi (VCT)

Varikozel oluşumundan 10 hafta sonrasında tüm sıçanlar aynı anestezi tekniği ile cerrahi insizyon yapıldı. Tüm sıçanlardan 1 tanesi hariç, diğerlerinde varikozel gelişimi internal spermatik ven çapında genişlemeler gözlenmesiyle teyit edildi (Resim 5.2.2.1.) (122). Varikozel modeli oluşmayan bir sıçan çalışma dışı bırakıldı. Daha sonra sıçanlardan 6 tanesine varikoselektomi operasyonu uygulandı. Varikoselektomi işleminde 4/0 ipek dikiş ile dilate spermatik ven bağlandı (123).

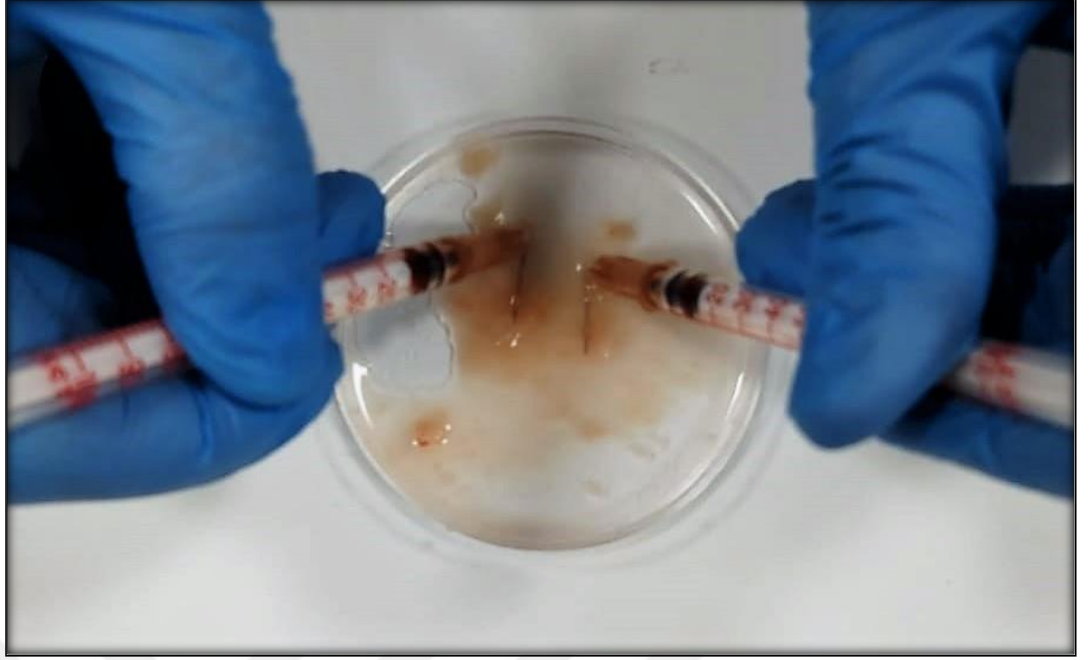


Resim 5.2.2.1. Deneysel varikozel modeli sonucu internal spermatik vende genişleme: Siyah ok işareti internal spermatik vendeki dilatasyonu göstermektedir.

Varikoselektomi operasyonundan 8 hafta sonra her iki grup da anestezi altında sakrifiye edildi, testis ve epididymis dokuları çıkartılarak aşağıdaki analizler gerçekleştirildi:

5.2.3. Semen analizi

Hayvanlarda semen alımı için cauda epididymis dikkatlice testis dokusundan ayrıldı ve 5 ml medium (HTF w/ HEPES GMHH-200427U) içeren petri dish'e konuldu. Cauda epididymis sperm salınımı için parçalandı (Resim 5.2.3.1.) ve 37°C inkübütörde 15 dk tutuldu. Sperm sayımı için semen 1:2 oranında dilue edildi. Sperm suspansiyonu sayma çemberine alındı ve tüm kareler (1-9) sayıldı.



Resim 5.2.3.1. Cauda epididymis'ten sperm alımı işlemi

5.2.4. Testis değerlendirilmesi

Sıçanlarda testisler alınarak, yağ ve bağ dokudan ayrıldı. Digital capiller ile testislerin çapı, eni ve genişliği ölçülerek not edildi, testis'lerin ağırlığı tartıldı. Testis hacmi Lambert formülü ($uzunluk \times genişlik \times yükseklik \times 0,71$) kullanılarak hesaplandı (124).

Testisler fiksasyon işlemi için %10'luk nötral formalin buffer solüsyonu içerisine konuldu ve bir gece boyunca oda sıcaklığında bekletildi. Ardından fiksatifi uzaklaştırılması amacıyla testis dokuları çeşme suyu altında bir saat bekletildi. Daha sonra dehidratasyon için dokular kademeli olarak konsantrasyonu artan (%70-%90-%96-%100) alkol serilerinde bir saat etüv içerisinde bekletildi. Sonrasında saydamlaştırma yapmak amacıyla dokular ksilen içerisinde bir saat bekletilip, örnekler 1 saat parafinle muamele edildi ve 5 µm kesit alınarak bloklar hazırlandı. Hazırlanan bloklara hematoksilin eozin boyama işlemi yapıldı.

Testis dokusu standart ışık mikroskobu kullanılarak değerlendirildi. Tubuli seminiferi'deki spermatogenez Johnsen's skorlama yöntemiyle 10x büyütmede değerlendirildi. Spermatogenetik hücrelerin varlığına göre 20 adet tubuli semiferi

1'den 10'a kadar derecelendirildi (Tablo 5.2.4.1). Ortalama puanı hesaplamak için, her tubuli seminiferi için kaydedilen puan toplanıp, sayılan toplam túbül sayısına bölündü (125).

Tablo 5.2.4.1: Johnsen skorlaması

Skor	Histolojik kriter
1	Germ hücresi ve Sertoli hücresi yok
2	Germ hücresi yok, sadece Sertoli hücresi mevcut
3	Germ hücresi olarak sadece spermatogonia mevcut
4	Yalnızca birkaç spermatosit var (<5), spermatozoa veya spermatid yok
5	Spermatozoa/ spermatid yok, çok sayıda spermatosit var.
6	Spermatozoa yok, yalnızca birkaç tam gelişmemiş spermatid var
7	Spermatozoa yok ama pekçok gelişmiş (late) spermatid var
8	Yalnızca birkaç spermatozoa var (5-10)
9	Hasarlı permatzoa var, disorganize epitel ve lümen bozuk
10	Tam bir spermatogenezis ve düzgün yapılı túbüller

5.2.5. İmmunohistokimya analizi

Sıçan sperm hücreleri lam üzerine yayıldıktan sonra kurumaya bırakıldı. Daha sonra örnekler %4'lük paraformaldehit ile oda sıcaklığında 20 dk fikse edildi. Ardından üç kez 5 dk boyunca fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile yıkandı. Endojen peroksidazı inhibe etmek amacıyla preparatlar %3'lük hidrojen peroksit solüsyonu içerisinde 20 dk, oda sıcaklığında inkübe edildi ve ardından 3 kez 5 dk PBS ile yıkandı.

Antijen geri kazanımını gerçekleştirmek amacıyla preparatlar mikrodalgada 800 watt'ta kaynayana kadar Sitrat buffer solüsyonunda inkübe edildi ve sonrasında 200 watt'ta 10 dk boyunca kaynatılıp, 30 dk soğumaya bırakıldı. Bloklama amacıyla oda sıcaklığındaki humidified chamber içindeki preparatlara 10 dk protein blocking solüsyonu uygulandı ve sonrasında 1 kez PBS ile yıkandı. Ardından PBS ile dilüsyonu sağlanan primer antikolar (PARP-1; 1:50, ERK 1/2; 1:100) uygulandı ve bir gece boyunca +40°C'de bekletildi. Ertesi gün PBS ile 3 kez 5 dk yıkanan preparatlara, biotinlenmiş goat anti-polyvalent kiti 10 dk boyunca uygulandı. Bu işlemin ardından da 3 kez 5'er dk PBS ile yıkandı. Yıkama işleminin ardından 10 dk streptavidin peroksidaz uygulandı ve sonrasında 3 kez 5'er dk PBS ile yıkandı. İmmunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğü sağlamak amacıyla 10 dk boyunca diaminobenzidin (DAB) uygulaması yapıldı ve sonrasında 3 kez 5'er dk PBS ile yıkandı. Karşıt boyama amacıyla Mayer's hematoksilen ile 5 dk boyunca hücreler boyandıktan sonra distile su ile 10 dk yıkandı. Ardından preparatlar artan alkol serilerinden 1'er dk geçirildi ve 20 dk boyunca Ksilen içerisinde tutularak sonrasında mounting medyum kullanılarak lamel ile kapatıldı. Boyanan antikoların ekspresyon analizlerinin değerlendirilmesi ışık mikroskop altında gerçekleştirildi. Baş ve boyun bölgesinde antikor ekspirasyonu gösteren sperm hücreleri pozitif olarak değerlendirildi ve oranı % olarak hesaplandı (126).

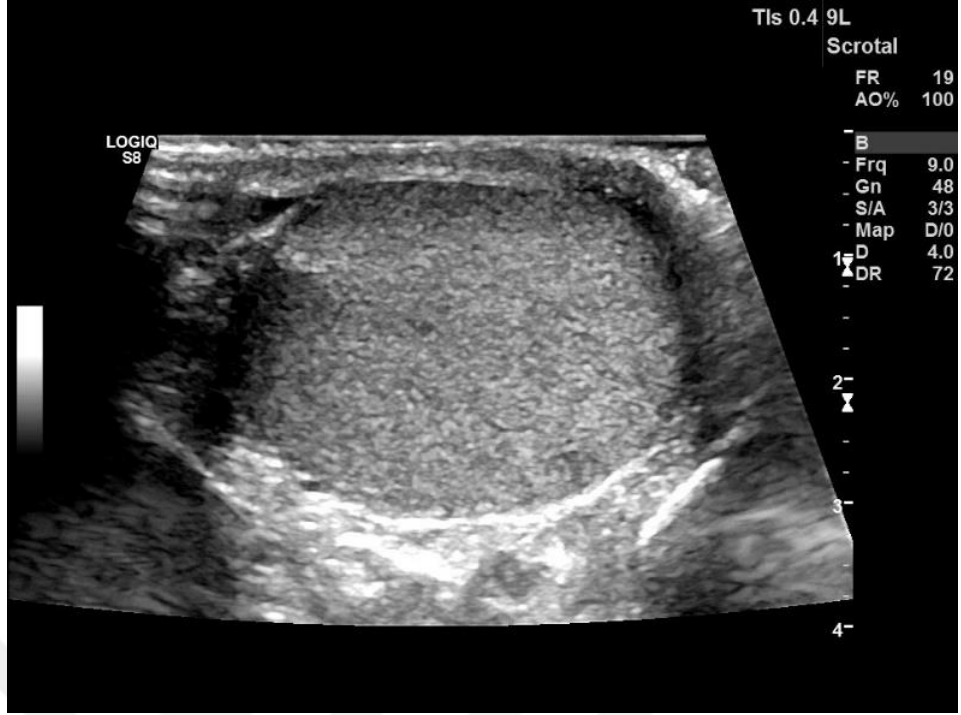
5.3. İnsan Grubuna Yapılan İşlem ve Analizler

5.3.1. Ultrasonografi

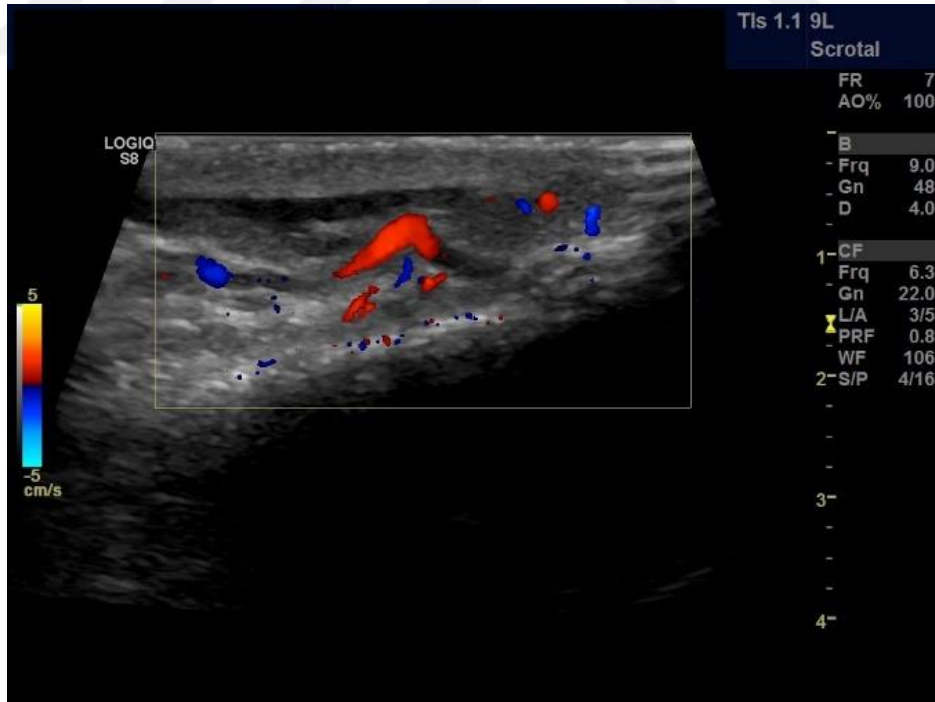
Hastalarda Uzman Radyolog tarafından MyLab™9 eXP model (Esaote, Genoa, Italy) US cihazı ile, supin pozisyonda Valsalva manevrası sırasında (7.0-12.0 fr MHz) linear probe kullanılarak değerlendirildi.

Problar jel uygulaması sonrası steril örtü ile sarıldı. Her iki hemiskrotal loj ayrı ayrı değerlendirildi. Uygulama öncesi olguların valsalva manevrasını bilip bilmedikleri kontrol edildi, bilmeyenlere tarif edildi. İncelemede testis parankim yapısı ve konturları gri skala inceleme ile değerlendirildi (Resim 5.3.1.1.) Varikozel hastalarında testis hacimleri prader orchidometer ile ölçüldüğünde normal sınırlar

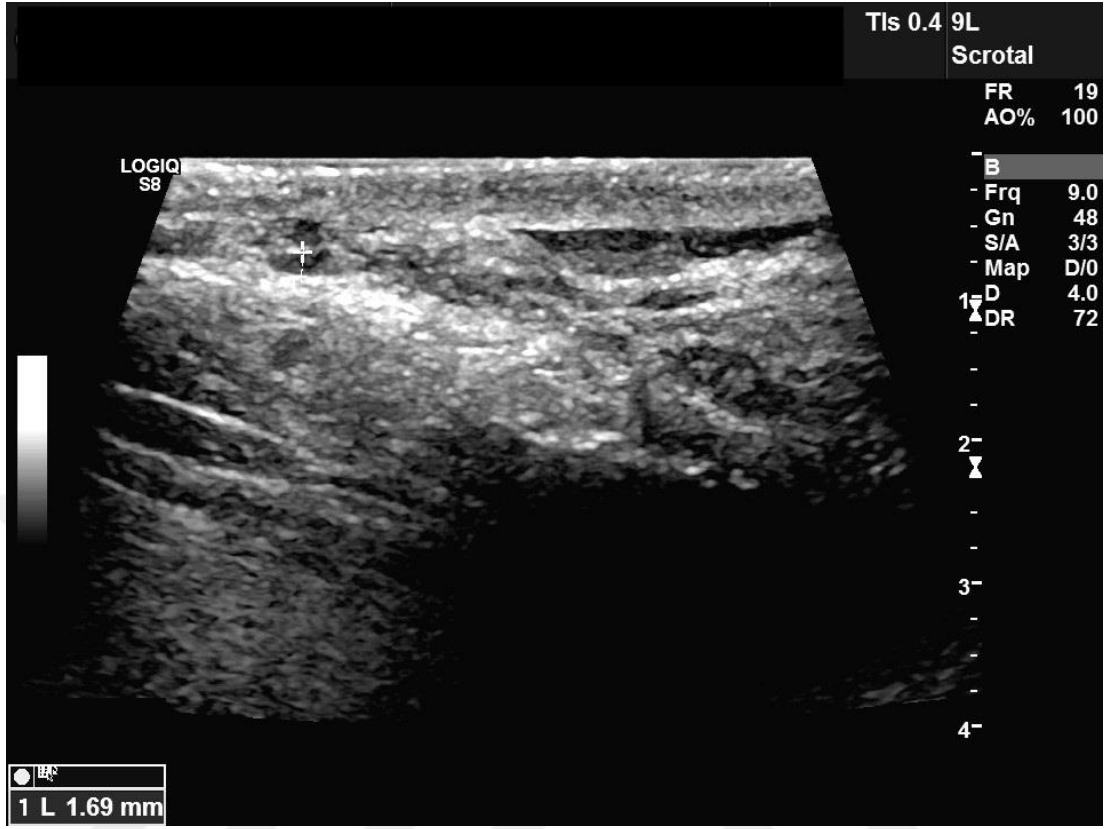
içerisinde belirlendiği için ultrasonografide değerlendirilmeye tabi tutulmadı. Hemiskrotal lojlarda sıvı olup olmadığı kaydedildi. Her iki testis komşuluğunda plexus pampiniformis ven yapıları testisin hem superior hemde inferior kutupları boyunca değerlendirildi. Değerlendirme önce gri skalada nötral pozisyonda yapılarak çap ölçümü gerçekleştirildi (Resim 5.3.1.2). Valsalva manevrası sırasında çap ölçümü tekrarlandı. Renkli dopler ultrasonografi (RDUS) ile parankim kanlanması kontrol edildi (Resim 5.3.1.3). Valsalva manevrası ile reflü akım mevcudiyeti kontrol edildi ve not edildi. Valsalva manevrası olmaksızın çapı 2 mm'in üzerinde ölçülen ve reflü akım saptanan hastalar çalışmaya dahil edildi. Plexus pampiniformis'teki genişleyen maksimum ven çapları ölçüldü. Avrupa Üroloji Derneğinin 2020 yılında yayınlanan klavuzunda(121) klinik varikozel tanısı için ayakta Valsalva manevrası sırasında ölçülen maksimum ven çapı eşik değerinin 3 mm olarak belirlenmesi baz alınarak, ven çapı 3 mm'in üzerinde olan hastalar klinik ve 3 mm'in altındakiler subklinik varikozel olarak kategorize edildi. Kontrol grubunda ve varikozektomi uygulanan hastalarda post-op endikasyon bulunmadığı için ultrasonografi değerlendirilmesi yapılmadı.



Resim 5.3.1.1. Testis parankim yapısı ve kontürlerinin gri skala incelemesi



Resim 5.3.1.2. RDUS ile parankim kanlanmasının incelenmesi



Resim 5.3.1.3. Gri skala internal spermatic ven çapının ölçülmesi

5.3.2. Spermogram

İnsan grubunda semen örnekleri 3-5 günlük cinsel yoksunluktan sonra mastürbasyon yoluyla toplandı. Yaklaşık 20 dklık likefaksiyon sürecinden sonra 30 dk içerisinde, deneyimli teknisyenler tarafından semen örneklerinde Dünya Sağlık Örgütü kriterlerine göre aşağıdaki parametrelerin analizi gerçekleştirildi:

a) Semen hacmi: Hastadan alınan semen örneğinin hacmi (ml) ölçüldü.

a) Sperm konsantrasyonu ve toplam sperm sayısı: Semen örneğinin sıvılaşmış homojenize olması olarak tanımlanan likefiye olmuş semen örneğinden Makler sayma kamerasına 10 µl koyulduktan sonra, faz kontrast mikroskopunda, 20x objektif altında 100 kare sayılarak sperm konsantrasyonu (milyon/ml) ve toplam sperm sayısı (milyon) belirlendi.

b) Sperm motilitesi: Likefiye olmuş semen örneğinden lam üzerine 10 µl koyulduktan sonra, lamel ile kapatılarak faz kontrast mikroskopunda, 40x objektifte ileri ve yerinde hareketli oranı (%) belirlendi. Aşağıdaki formüllerle toplam motilite ve hareketsiz sperm oranları hesaplandı.

"Toplam motilite (%) = ileri hareketli sperm (%) + yrinde hareketli sperm (%)"

"Hareketsiz sperm (%) = 100 – toplam motilite"

c) Sperm morfolojisi: Likefiye olmuş semen örneğinden lam üzerine 10 µl koyulduktan sonra, lamel ile 45° açı ile yayma "smear" hazırlandı. Havada kurutulan lam, Diff-3 boyama kitinin fiksatifinde 15 saniye bekletilerek fikse edildikten sonra Diff-3 boyama çözeltilerinde sırasıyla 10'ar saniye bekletilip preparat distile su ile yıkandı ve havada kurutuldu. 100x objektif altında immersiyon yağı kullanılarak en az 100 sperm sayıldı ve 'Kruger's strict criteria' kurallarına göre normal morfoloji oranı (%) belirlendi.

5.3.3. Sperm kromatin yapısının gösterilmesi

Sperm kromatin yapısının gösterilmesinde Toluidin blue boyası kullanıldı. Toluidin blue boyası kromatin hasarı sonucu açığa çıkan DNA fosfat grupları ve

kalıntılarına yüksek afinite göstererek kromatin kondensasyon durumunu ve DNA fragmentasyonunu hakkında bilgi verir. Hava ile kurutulmuş sperm yayma örnekleri 4 °C'de %96'lık etanol-aseton içerisinde 1 saat fikse edildi. Preparatlar 0.1 N HCl içerisinde hidroliz edildikten sonra distile su ile yıkandı. Ardından preparatlar 5 dk %0,05 Toluidin Blue boyası ile boyandı. Işık mikroskobunda 40x objektif altında, soluk mavi sperm hücreleri boyanmamış, koyu mavi ya da mor spermatozoonlar boyanmış olarak değerlendirildi. Her preparatta en az 100 hücre sayıldı ve boyanan spermatozoonların yüzdesi kromatin hasarı oranı olarak sunuldu.

5.3.4. DNA fragmentasyonunun belirlenmesi

Her gruptan 6'şar tane olmak üzere toplam 24 semen örneğinde (Kontrol n=6, Subklinik n=6, Klinik n=6, Varikoselektomi n=6) DNA fragmentasyonu Halomax® kit (Halotech DNA, Spain) kullanılarak analiz edildi.

Semen örnekleri 3500 rpm de 10 dk santrifuje edildikten sonra örneklerden 1 ml ayrıldı. Ayrılan semen örneğin 1:1 (1 ml) medium (global/ HEPES LGGH-100, LGGH-20020C) ile muamele edilip, tekrar 3500 rpm'de 10 dk santrifuje edildikten sonra üzerinden 1 ml semen eksiltildi. Elde edilen örnekten 25 µl alınıp eppendorf tüpüne aktarıldı. Halomax kit içerisindeki agarose jel 95°C -100°C'de kaynatıldı, sonrasında 37°C etüvde 5 dk bekletildi. İnkübasyondan sonra 25 µl semen örneğine 50 µl agarose jel eklendi. Semen-agarose karışımından 2 µl örnek kit içerisinde yer alan slide alanları üzerine yerleştirilip 24 × 24 mm lamel ile kapatıldı ve 4°C de 5 dk jelin sperm hücrelerine invazyonu için bekletildi. Sonrasında lamel kaldırılıp lysis solüsyonu ile 5 dk oda sıcaklığında muamele edildi. Sonrasında slaytlar 5 dk distile su ile yıkandı ve dehidretasyon işlemi 2'şer dk %70'lik ve %100'lük alkol serilerinden geçirilip kurumaya bırakıldı. Hazırlanan slidelar difkuik boyası ile boyanıp, her bir örnek için 100 spermatozoa ışık mikroskobunda 100x büyütme ile sayıldı. Normal DNA yapısına sahip spermlerde halo yapısı gözlemlendi. Halo yapısı gözlenmeyen veya baş yapısı bozulmuş spermler DNA fragmentasyonuna sahip olarak kabul edildi ve sonuçlar yüzde olarak verildi.

5.3.5. Oksidatif stress analizi

Olguların total oksidan ve total antioksidan seviyeleri Rel Assay TOS-TAS Kit (Sigma-Aldrich) ile analiz edildi. Oksidatif Stress İndeksi (OSi) = $TAS \div (TOS \times 10)$ formülü kullanılarak hesaplandı.

a) Total oksidan seviyesi (TOS): Analizlerde ticari olarak satılan “Rel Assay TOS Kit (Sigma-Aldrich)” kitinin protokolü takip edildi. Semen örnekleri 2500 rpm’de 10 dk santrifüje edildi. Sonrasında 7,5 µl semen örnekleri üzerine 50 µl Assay Buffer (Reagent 1) solüsyonu eklendi. Standart 1 olarak 7,5 µl double distile su kullanıldı. Başlangıç absorbansı spektrofotometre (iMAX) ile 530 nm’de ölçüldü. Daha sonra tüm örnekler ve standartlar üzerine 2,5 µl Prochromogen Solution (Reagent 2) solüsyonu eklendi. Örnekler inkübasyon için 37° C etüvde 10 dk bekletildikten sonra, spektrofotometrede 530 nm’de ikinci absorbans değeri ölçüldü.

b) Total antioksidan seviyesi (TAS): Analizlerde ticari olarak satılan “Rel Assay TAS Kit (Sigma-Aldrich)” kitinin protokolü takip edildi. 2500 rpm’de 10 dk santrifüje edilen semen örneklerinden 3 µl kullanıldı, üzerine 50 µl Assay Buffer (Reagent 1) solüsyonu eklendi. Standart 1 olarak 3 µl double distile su, Standart 2 olarak 3 µl 1.0 mmol Trolox Equiv/L kullanıldı. Spektrofotometre (iMAX) ile 660 nm’de başlangıç absorbansı ölçüldü. İlk ölçüm sonrasında tüm örnekler ve standartlar üzerine 7,5 µl Colored ABST Radical solüsyonu eklenerek, 37° C etüvde 10 dk inkübe edildi. Sonrasında spektrofotometrede 660 nm’de ikinci absorbans değeri ölçüldü.

5.3.6. İmmunohistokimya analizi

Hava ile kurutulmuş sperm yayma örnekleri %4’lük paraformaldehit ile oda sıcaklığında 30 dk fikse edildi. Ardından üç kez 5 dk boyunca PBS (fosfat tampon solüsyonu) ile yıkandı. Endojen peroksidazı inhibe etmek amacıyla preparatlar %3’lük Hidrojen peroksit solüsyonu içerisinde 20 dk, oda sıcaklığında inkübe edildi ve ardından 3 kez 5 dk PBS ile yıkandı. Antijen geri kazanımını gerçekleştirmek amacıyla, 800 wattta 20 sn preparatlar Sitrat buffer solüsyonunda inkübe edildi ve sonrasında 200 watt’lık mikrodalga içerisinde 20 dk boyunca kaynatıldı. Sonrasında preparatlar 20 dk soğumaya bırakıldı. Preparatlar 5’er dk PBS ile üç kez yıkandıktan

sonra preparatlara 10 dk protein blocking solüsyonu uygulandı PBS ile dilüsyonu sağlanan primer antikorlar (PARP-1; 1:100, ERK 1/2; 1:100) uygulandı ve 1 gece boyunca +40°C’de bekletildi. Ertesi gün PBS ile 3 kez 5 dk yıkanan preparatlara, biotinlenmiş goat anti-polyvalent kiti 10 dk boyunca uygulandı. Bu işlemin ardından da 3 kez 5’er dk PBS ile yıkandı. Yıkama işleminin ardından 10 dk streptavidin peroksidaz uygulandı ve sonrasında 3 kez 5’er dk PBS ile yıkandı. İmmunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü sağlamak amacıyla 8 dk boyunca DAB uygulaması yapıldı ve sonrasında 3 kez 5’er dk PBS ile yıkandı. Karşıt boyama amacı için Mayer’s hematoksilen ile 2 dk boyunca hücreler boyandıktan sonra preparatlar 10 dk akarsu altında yıkandı. Preparatlar 3 dk boyunca Ksilen içerisinde tutulduktan sonra mounting medium kullanılarak lamel ile kapatıldı. Boyanan antikorların ekspresyon analizlerinin değerlendirilmesi ışık mikroskop altında gerçekleştirildi. Antikor ekspresyonları akrozom, baş, stoplazmik droplet, boyun ve kuyruk bölgesinde olmak üzere yoğunluğuna göre 0: boyanma yok, 1: hafif boyanma, 2: orta boyanma, 3: tam boyanma şeklinde skorlandı. Her preparatta her olgu için sayılan sperm sayısına göre toplam skorun ortalaması hesaplandı.

5.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS (IBM) programı kullanılarak gerçekleştirildi. Veriler ortalama ve standart sapma olarak sunuldu. Nicel verilerin dağılımına Shapiro-Wilk testi ile bakıldı. Normal dağılım gösteren nicel verilerde grupların karşılaştırılmasında one-way ANOVA testi kullanıldı. Levence testi sonucu homojen dağılan varyanslar örneklem sayısı eşit gruplarda Tukey, örneklem sayısı eşit olmayan gruplarda Scheffe; homojen dağılmayan varyanslar Tamhanes’s T2 post hoc testleri kullanılarak analiz edildi. Normal dağılıma uymayan verilerde grupların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı.

6. BULGULAR

6.1. Sıçan Grubuna Ait İnceleme Sonuçları

6.1.1. Sperm parametreleri

Sıçan gruplarında sperm parametreleri (sperm konsantrasyonu, ileri progresif motilite ve toplam motilite oranı) değerleri (ortalama \pm standart sapma) Tablo 6.1.1’de gösterilmiştir.

Sperm konsantrasyonu varikozel ($p=,009$) ve varikosektomi ($p<0,001$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. Sperm konsantrasyonu değerlerinde varikozel ile varikosektomi grupları arasında ise anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 6.1.1.1).

Kontrol grubunda ileri progresif motilite oranı, varikozel ($p<0,001$) ve varikosektomi ($p<0,001$) gruplarından anlamlı derecede yüksek bulundu. Varikozel ile varikosektomi grupları arasında progresif motilite oranında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$) (Şekil 6.1.1.2.).

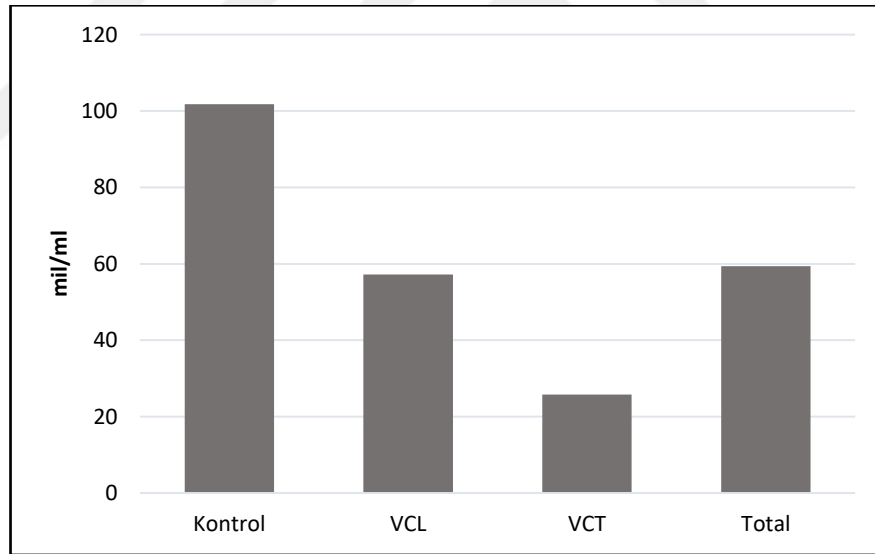
Toplam motilite oranında ise sadece varikozel ile varikosektomi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunurken ($p=0,015$), diğer gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 6.1.1.3.).

Tablo 6.1.1: Sıçanlara ait sperm parametrelerinin ortalama ve standart sapma değerleri

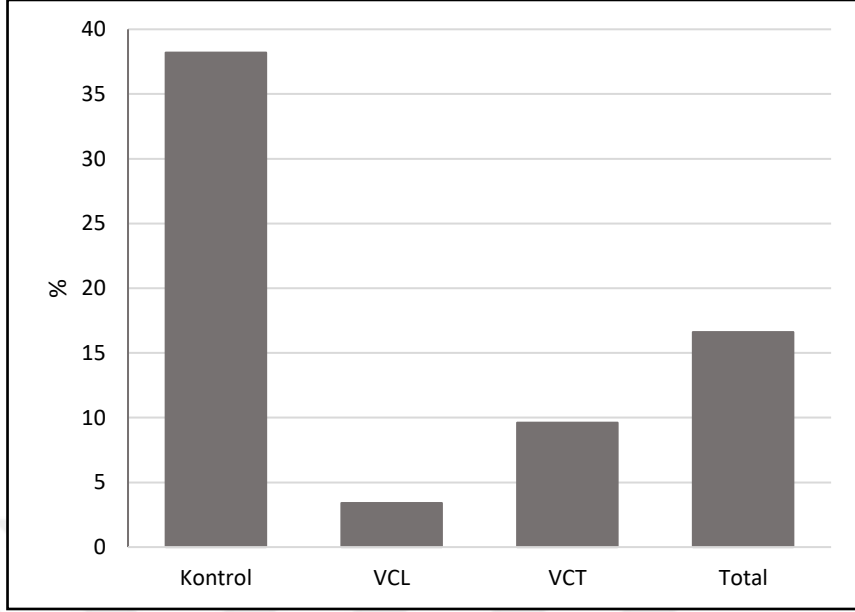
	Kontrol (n=5)		VCL (n=5)		VCT (n=6)		Total (n=16)	
	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS
Sperm konsantrasyonu (mil/ml)	101,8^{a,b}	18,1	57,2^a	22,2	25,8^b	19,1	59,4	37,3
İleri progresif motilite (%)	38,2^{a,b}	2,1	3,4^a	1,6	9,6^b	4,6	16,6	15,6
Toplam motilite (%)	63,6	16,9	53,8^c	21,8	16,1^c	17,6	42,8	27,9

VCL: Varikosel, VCT: Varikosektomi

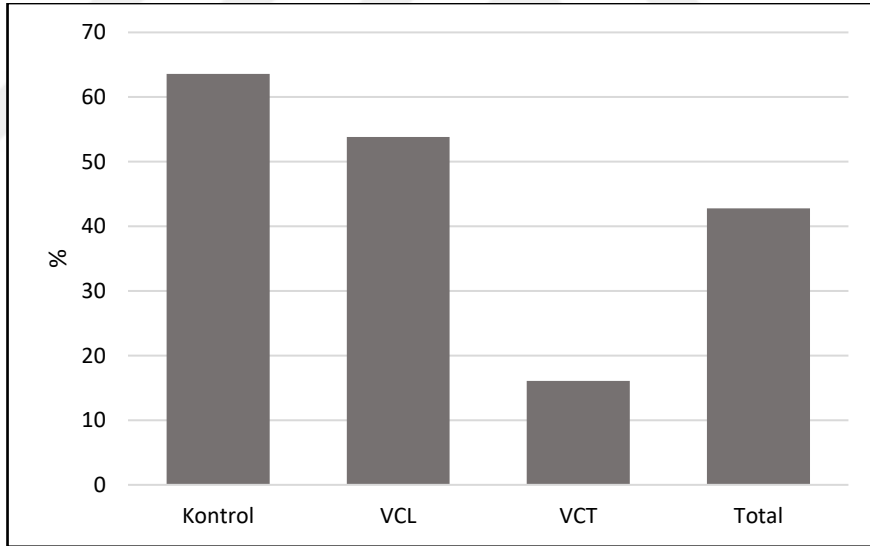
^a kontrol ile varikosel grubu arasında $p<0,05$; ^b kontrol ile varikosektomi grubu arasında $p<0,05$; ^c varikosel ile varikosektomi grubu arasında $p<0,05$



Şekil 6.1.1.1. Sıçanlara ait sperm konsantrasyonu değerleri grafiği



Şekil 6.1.1.2. Sıçanlara ait ileri progresif motilite oranı grafiği



Şekil 6.1.1.3. Sıçanlara ait toplam motilite oranı grafiği

6.1.2. Testis parametreleri

Hayvanların ortalama ağırlıkları $411,31 \pm 35,10$ gr olup, gruplar arasında hayvan ağırlığı açısından anlamlı farklılık yoktu ($p > 0,05$).

Hayvan gruplarında testis hacim ve ağırlıkları değerleri (ortalama \pm standart sapma) Tablo 6.1.2.1’de, gösterilmiştir.

Vrikosel modeli oluşturulan hayvanlarda sol testis boyutlarının sağ testis boyutlarına göre azaldığı gözlemlendi (Resim 6.1.2.1 ve Resim 6.1.2.2). Hem sağ hem de sol testis hacmi en düşük varikosektomi grubunda görüldü. Sağ testis hacminde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0,05$). Sol testis hacmi varikosektomi grubunda kontrol ($p = 0,016$) ve varikosel grubuna göre ($p = 0,034$) istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. Sol testis hacminde kontrol ile varikosel grupları arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$). Ortalama sol testis hacmi en fazla kontrol grubunda iken en düşük varikosektomi grubunda bulundu (Şekil 6.1.2.3).

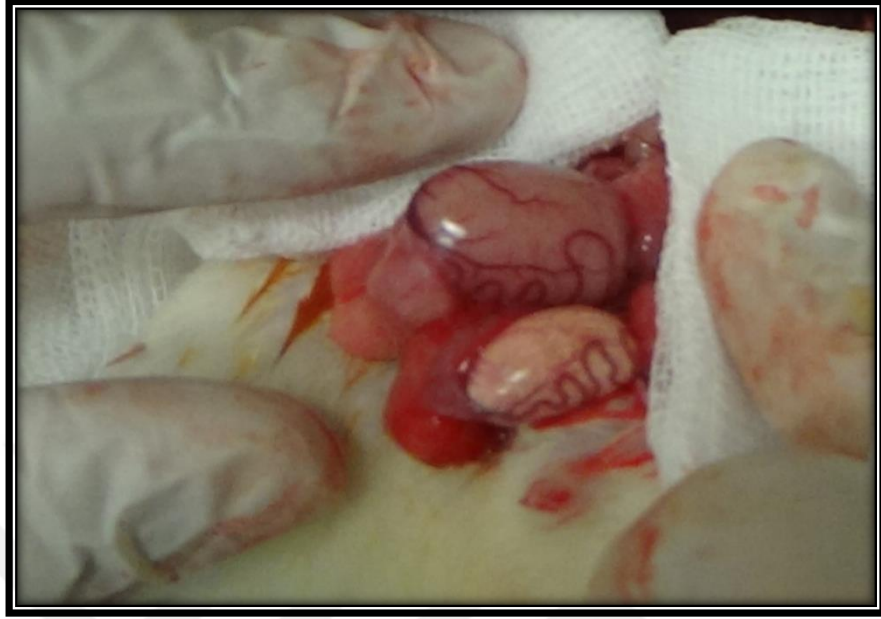
Sol ve sağ testis ağırlığı değerlerinde gruplar arasında istatistiksel fark bulunmadı ($p > 0,05$) (Şekil 6.1.2.4).

Tablo 6.1.2.1. Sıçanlarda testis hacim ve ağırlıklarının ortalama ve standart sapma değerleri

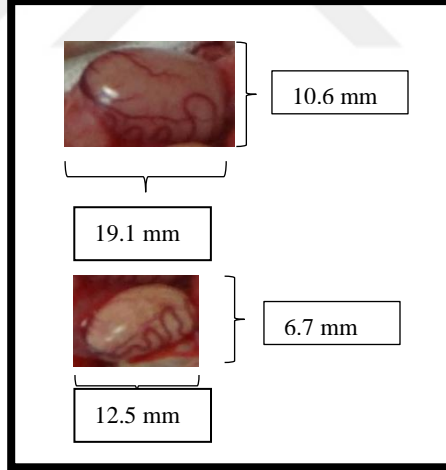
	Kontrol n=5		VCL n=5		VCT n=6		Total n=16	
	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS
Sol testis hacmi (cm ³)	1058,3^b	153,9	966,8^c	523,5	360,2^{b,c}	289,8	767,9	463,9
Sağ testis hacmi (cm ³)	992,2	604,3	1041,6	264,2	967,6	731,1	998,5	543,3
Sol testis ağırlığı (gr)	4,2	0,4	4,4	1,5	3,2	0,5	3,8	1,1
Sağ testis ağırlığı (gr)	3,9	0,1	4	0,2	3,7	0,8	3,9	0,5

VCL: Varikozel, VCT: Varikozektomi

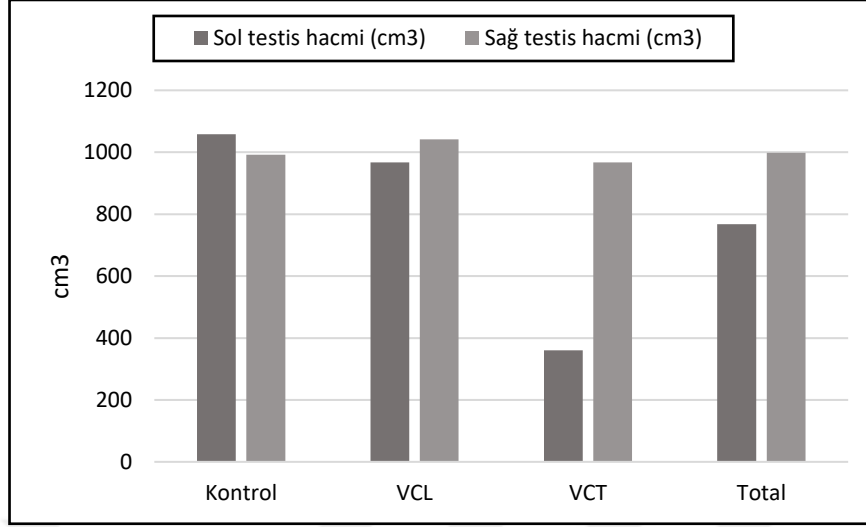
^b kontrol ile varikozektomi grubu arasında $p<0,05$, ^c varikozel ile varikozektomi grubu arasında $p<0,05$



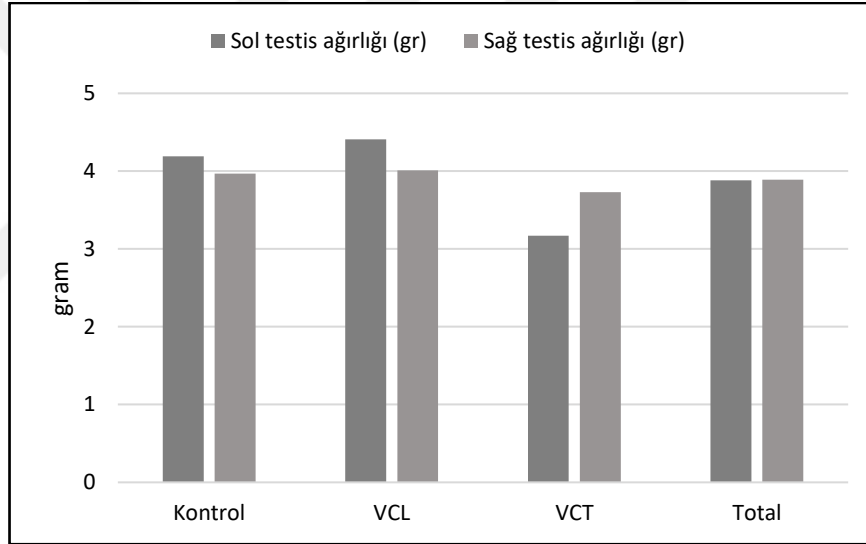
Resim 6.1.2.1. Deneysel varikozel modeli oluşturulan Őıçanlarda Őađ ve sol testisin görüntüsü



Resim 6.1.2.2. Varikozel modeli oluşturulan 2 numaralı hayvanda testis hacimlerinin göreceli karşılaştırması



Şekil 6.1.2.3. Sıçanlarda testis hacimleri grafiği



Şekil 6.1.2.4. Sıçanlarda testis ağırlıkları grafiği

6.1.3. Testis histolojisi

Hematoksilen eosin boyaması sonucu analiz edilen histolojik bulgular şu şekildedir:

Kontrol grubu: Kontrol grubuna ait testis dokularında herhangi bir histolojik anormallik gözlenmedi. Yapılan histolojik değerlendirmeler sonucunda tubuli seminiferi yapılarının normal olduğu, spermatojenik hücre yoğunluğunun fazla olduğu olduğu gözlemlendi (Resim 6.1.3.1)

Varikozel grubu: Varikozel grubuna ait testis dokularında tubuli seminiferi'lerin epitel organizasyonunda düzensizlik, spermatojenik hücre yoğunluğunda azalma, tübül lümenlerinde daralmalar, tubuli seminiferi epitelinde açılmalar, tubuli seminiferilerdeki germ tabakasını oluşturan hücrelerin sayısında azalma ve dejeneratif tübül sayısında artış gözlemlendi (Resim 6.1.3.2).

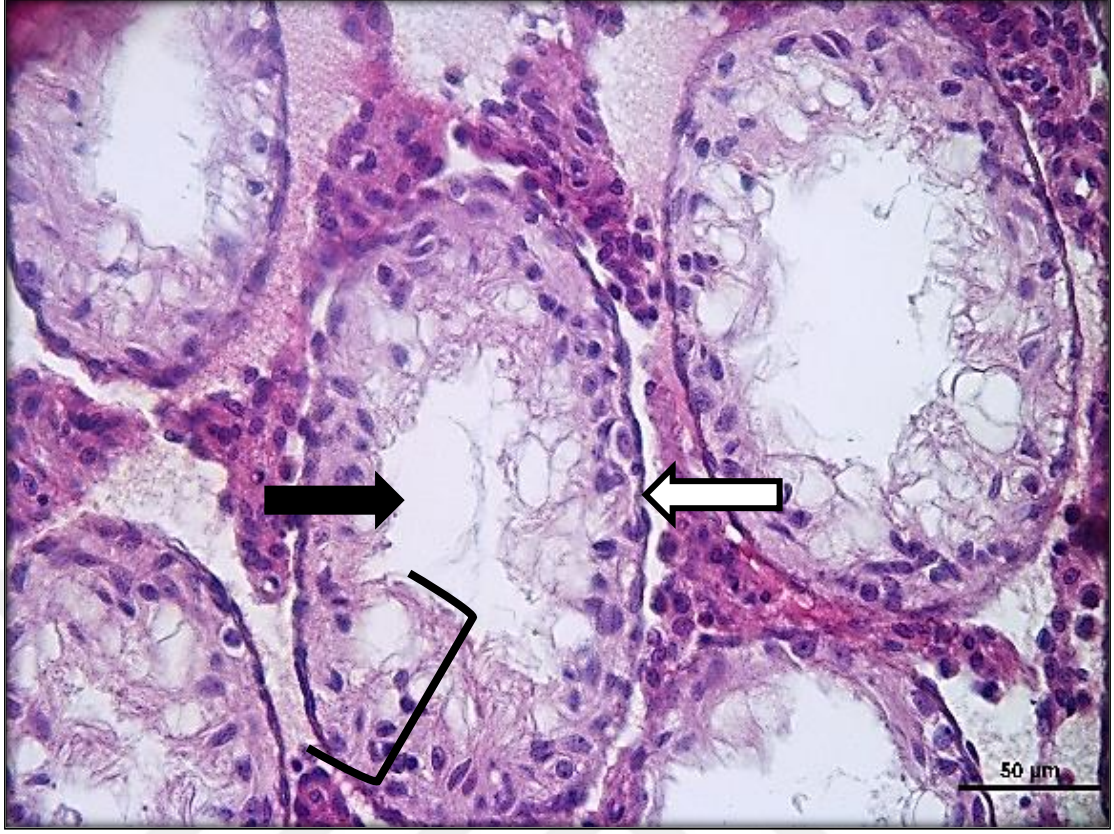
Vazoektomi grubu: Bu gruba ait testis dokularında da varikozel grubunda oluşan değişikliklere benzer şekilde spermatojenik hücre yoğunluğunda azalma ve dejeneratif tübül sayısında artış gözlemlendi. Tubuli seminiferi lümenlerinde daralma, epitel organizasyonunda düzensizlik ve açılmalar, tubuli seminiferilerdeki germ tabakasını oluşturan hücrelerin sayısında azalmalar mevcuttu (Resim 6.1.3.3).



Resim 6.1.3.1. Kontrol grubuna ait sıçanda testis dokusunun histolojik incelemesi: Parantez işareti spermatojenik seri hücrelerini göstermektedir. Siyah ok tubuli seminiferi lümenini, beyaz ok bazal lamina'yı göstermektedir.



Resim 6.1.3.2. Varikozel grubuna ait sıçanda testis dokusunun histolojik incelemesi: Parantez işareti spermatojenik hücre yoğunluğundaki azalmayı göstermektedir. Siyah ok tubuli seminiferi lümenindeki açılmalar, beyaz ok bazal lamina'daki incelmeyi göstermektedir.



Resim 6.1.3.3. Varikoselektomi grubuna ait sıçanda testis dokusunun histolojik incelemesi: Parantez işareti spermatojenik hücre yoğunluğundaki azalmayı göstermektedir. Siyah ok tubuli seminiferi lümenindeki açılmalar, beyaz ok bazal lamina'daki incelmeyi göstermektedir.

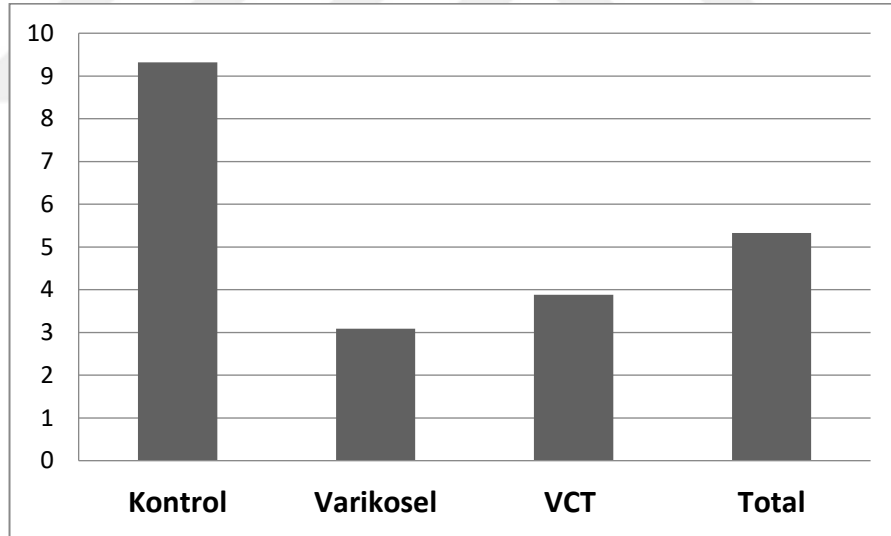
Hayvan gruplarında Johnsen skorları Tablo 6.3.1.1’de gösterilmiştir. Johnsen puanları kontrol grubuna göre varikosektomi ($p<0,001$) ve varikozel ($p<0,001$) grubunda anlamlı derecede düşük bulunurken, varikozel ile varikosektomi arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p<0,05$) (Şekil 6.1.3.4).

Tablo 6.1.3.1: Sıçanlarda Johnsen skorları ortalama ve standart sapma değerleri

	Kontrol (n=5)		VCL (n=5)		VCT (n=6)		Total (n=16)	
	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS
Johnsen Skoru	9,3^{a,b}	0,4	3,1^a	0,1	3,8^b	1,4	5,3	2,9

VCL: Varikozel, VCT: Varikosektomi

^a kontrol ile varikozel grubu arasında $p<0,05$, ^b kontrol ile varikosektomi grubu arasında $p<0,05$,



Şekil 6.1.3.4. Spermatogenez oranını gösteren Johnsen skorumla değerleri grafiği

6.1.4. PARP-1 ve ERK 1/2 proteinlerinin ekspresyonları

PARP-1 ve ERK 1/2 proteinlerinin ekspresyon seviyeleri (ortalama \pm standart sapma) değerleri Tablo 6.1.4'te gösterilmiştir.

Kontrol grubunda PARP-1 proteini ekspresyonu varikozel grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ($p=0,028$), varikosektomi grubundan ise düşük bulundu ($p<0,001$). Ayrıca varikosektomi grubunda PARP-1 proteini ekspresyonu varikozel grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$). En fazla PARP-1 proteini ekspresyonu varikosektomi grubunda gözlenirken, en düşük varikozel grubuna gözlendi (Şekil 6.1.4.1).

ERK 1/2 proteini ekspresyonunda sadece varikozel ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,013$). Varikozel grubunda kontrol grubuna göre ERK 1/2 proteini ekspresyonu daha yüksekti. Diğer gruplar arasında ERK 1/2 proteini ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p<0,05$). En yüksek ERK 1/2 proteini ekspresyonu varikozel grubunda gözlenirken en düşük kontrol grubunda gözlendi (Şekil 6.1.4.1).

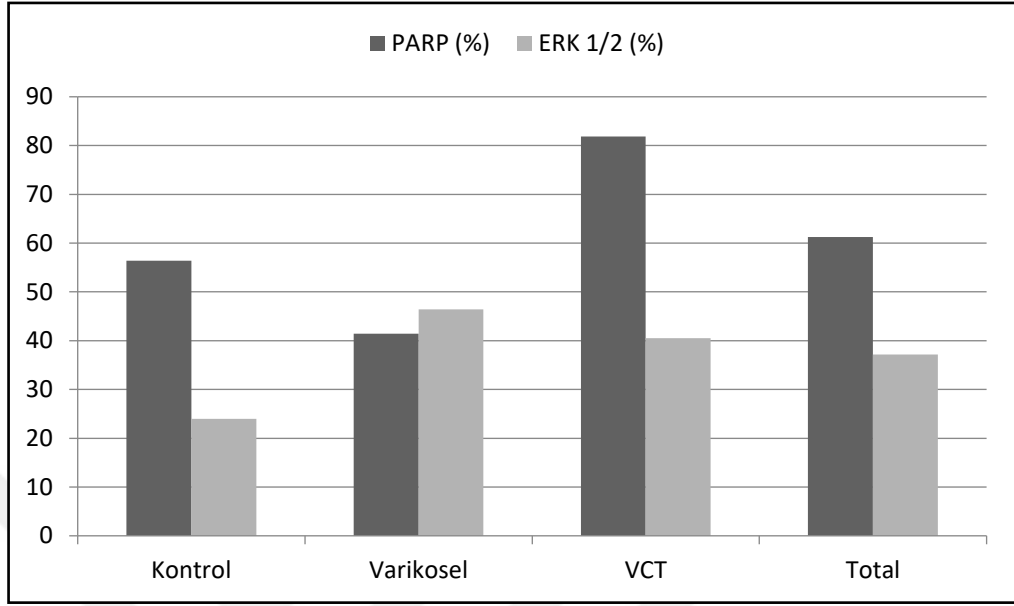
PARP-1 ve ERK 1/2 proteinlerinin sıçan spermlerinin yoğunluklu olarak baş ve boyun bölgesinde eksprese olduğu gözlendi (Resim 6.1.4.1).

Tablo 6.1.4.1. Sıçanlara ait PARP ve ERK 1/2 ekspresyonu ortalama ve standart sapma değerleri

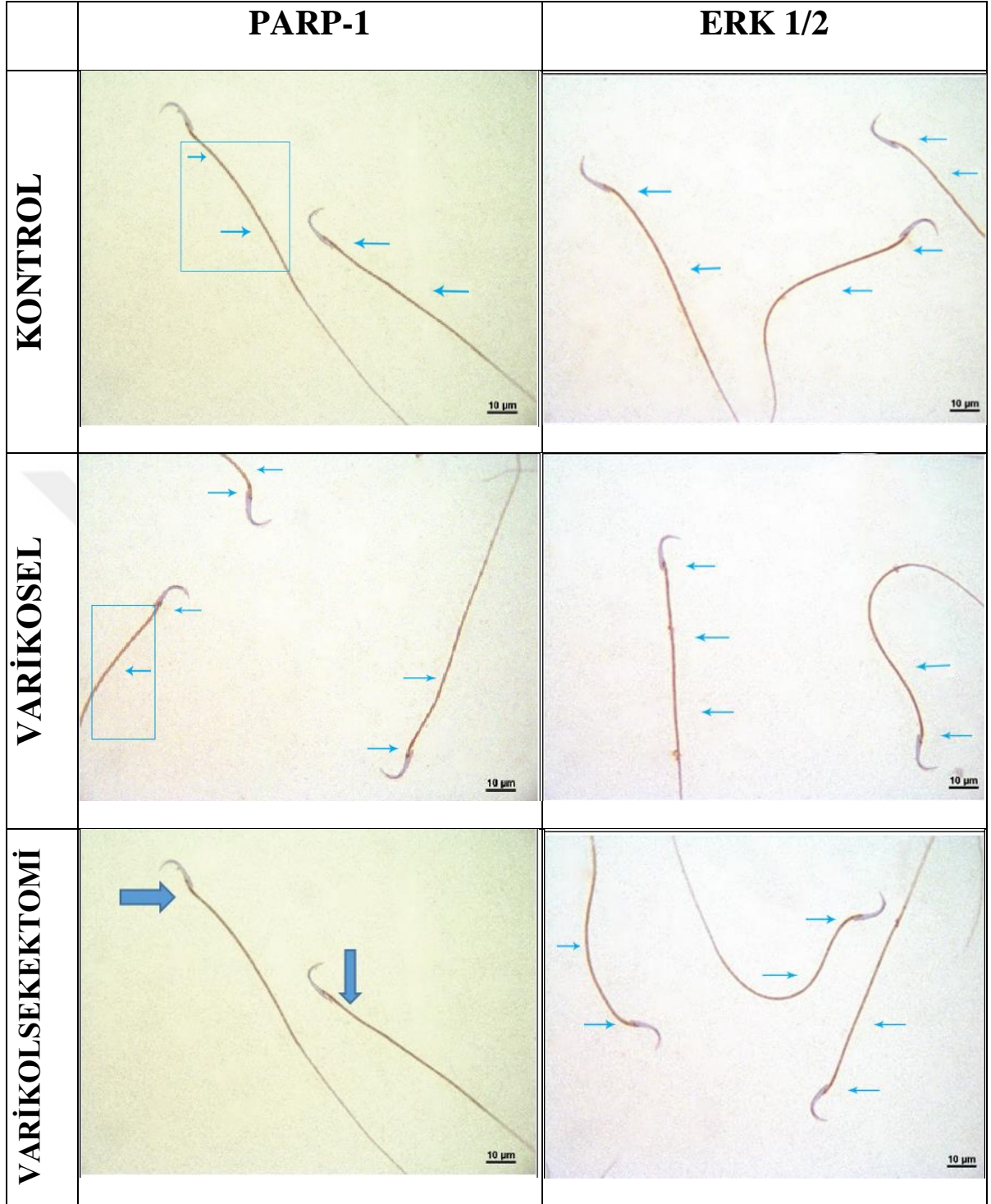
	Kontrol		Varikozel		VCT		Total	
	(n=5)		(n=5)		(n=6)		(n=16)	
	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS
PARP-1 (%)	56,4^{a,b}	6,3	41,4^{a,c}	11,6	81,8^{b,c}	5,1	61,2	19,1
ERK 1/2 (%)	24^a	6,4	46,4^a	16,5	40,5	6	37,2	13,7

VCL: Varikozel, VCT: Varikosektomi

^a kontrol ile varikozel grubu arasında $p<0,05$, ^b kontrol ile varikosektomi grubu arasında $p<0,05$, ^c varikozel ile varikosektomi grubu arasında $p<0,05$



Şekil 6.1.4.2. Sıçan spermelerinde PARP-1 ve ERK 1/2 ekspresyonları grafiği



Resim 6.1.4.1. Sıçan spermelerinde PARP-1 ve ERK 1/2 proteinleri ekspresyonları örnekleri: Oklar ve dikdörtgen kuyruk ve boyun bölgesindeki protein ekspresyonlarını göstermektedir.

6.2. İnsan Grubuna Ait İnceleme Sonuçları

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş ortalamaları $30,6 \pm 6,18$ (minimum 24- maksimum 45) olup gruplar arasında yaş değerlerinde anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0,05$). Varikozel hastalarının %40'ında bilateral varikozel (Subklinik n=4, Klinik n=4), %60'ında sol varikozel (Subklinik n=6, Klinik n=6) mevcuttu.

6.2.1. Ultrasonografi Bulguları

Çalışmaya dâhil edilen toplam 20 varikozel hastasında (subklinik n=10, klinik n=10) yapılan RDUS değerlendirmesinde tüm varikozel hastalarında sol internal spermatic venlerde reflü akım saptandı. Subklinik varikozel grubunda bir hastada grade 1, üç hastada ise grade 4 akım saptandı, diğer altı hastada reflü akım derecelendirilemedi. Klinik varikozel grubunda ise bir hastada grade 2, bir hastada grade 4 akım belirlendi, sekiz hastada da reflü derecelendirilemedi. Varikozektomi operasyonu geçiren hastalarda (VCT n=10) ve kontrol grubundaki (Kontrol n=10) olgularda endikasyon bulunmadığı için ultrasonografi değerlendirmesi yapılmadı.

6.2.2. Sperm parametreleri

Olguların semen parametreleri (semen hacmi, toplam sperm sayısı, ileri hareketli, yerinde hareketli, hareketsiz sperm, toplam motilite ve normal morfoloji oranları) değerleri (ortalama \pm standart sapma) Tablo 6.2.2.1'de de gösterilmiştir.

Ortalama semen hacmi varikozektomi grubunda ($p=0,004$) ve subklinik varikozel grubunda ($p=0,007$) kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında semen hacminde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0,05$). Tüm varikozel olguları ele alındığında (VCL) semen hacminde kontrol ve varikozektomi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$)(Şekil 6.2.2.1).

Sperm konsantrasyonu kontrol grubunda subklinik ($p=0,017$) klinik ($p=0,001$) ve varikozektomi gruplarından ($p=0,001$) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Tüm varikozel olguları ele alındığında (VCL) sperm konsantrasyonu değerlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük

olduğu saptandı ($p < 0,001$), tüm varikozel hastaları ile varikozektomi grubu arasında ise anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0,05$) (Şekil 6.2.2.2).

Toplam sperm sayısı varikozektomi ($p = 0,004$) ve klinik varikozel ($p = 0,007$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu, diğer gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanmadı ($p > 0,05$). Tüm varikozel olguları ele alındığında (VCL) toplam sperm sayısının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu saptandı ($p = 0,003$) tüm varikozel hastaları ile varikozektomi grubu arasında ise anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0,05$) (Şekil 6.2.2.3).

Kontrol grubunda toplam motilite oranı subklinik varikozel ($p = 0,009$), klinik varikozel ($p = 0,004$) ve varikozektomi ($p < 0,001$) gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Tüm varikozel olguları ele alındığında (VCL) toplam motilite kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p = 0,001$). Diğer grupların karşılaştırılmasında toplam motilite oranında anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0,05$) (Şekil 6.2.2.7).

İleri hareketli sperm oranı kontrol grubunda subklinik ($p = 0,001$) klinik ($p < 0,001$) ve varikozektomi ($p < 0,001$) gruplarından anlamlı derecede yüksek bulundu. Varikozektomi grubunda ileri hareketli sperm oranı subklinik ($p < 0,001$) ve klinik varikozel gruplarından ($p < 0,001$) anlamlı derecede düşük bulundu. Tüm varikozel olguları ele alındığında (VCL) ileri hareketli sperm oranı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük ($p < 0,001$) varikozektomi grubuna göre ise daha yüksek bulundu ($p < 0,001$) (Şekil 6.2.2.4).

Varikozektomi grubunda yerinde hareketli sperm oranı kontrol ($p < 0,001$), subklinik ($p = 0,018$) ve klinik ($p = 0,008$) gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Tüm varikozel olguları ele alındığında (VCL) yerinde hareketli sperm oranı kontrol grubu ile anlamlı farklılık göstermezken ($p > 0,05$), varikozektomi grubuna göre ise daha düşük bulundu ($p < 0,001$) (Şekil 6.2.2.5).

Hareketsiz sperm oranı, kontrol grubunda subklinik ($p = 0,009$), klinik ($p = 0,04$) ve varikozektomi gruplarından ($p < 0,001$) istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. Tüm varikozel olguları ele alındığında (VCL) hareketsiz sperm oranı kontrol

grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,001$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 6.2.2.6).

Aynı şekilde kontrol grubunda normal morfolojiye sahip sperm oranı diğer tüm gruplardan, subklinik ($p=0,007$), klinik ($p=0,004$) ve varikosektomi ($p<0,001$) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Tüm varikozel olguları ele alındığında (VCL) normal morfolojiye sahip sperm oranı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulundu ($p<0,001$). Diğer grupların karşılaştırılmasında normal morfolojiye sahip sperm oranında anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 6.2.2.8).

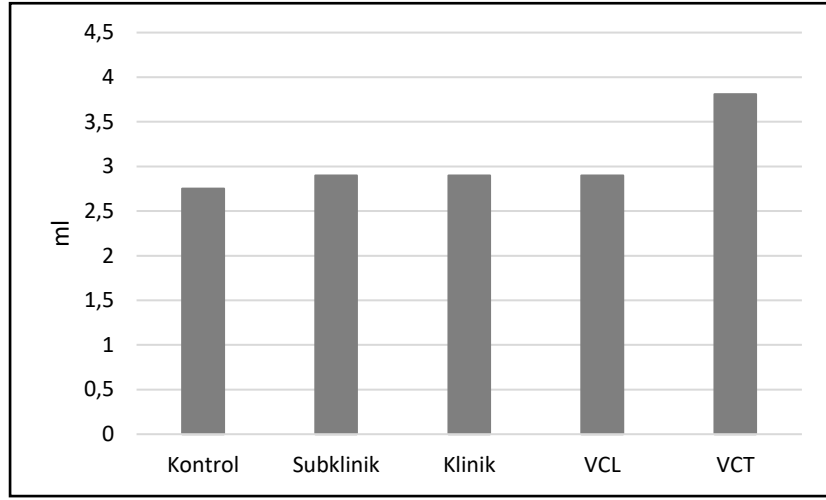


Tablo 6.2.2.1: Olguların semen parametreleri ortalama ve standart sapma değerleri

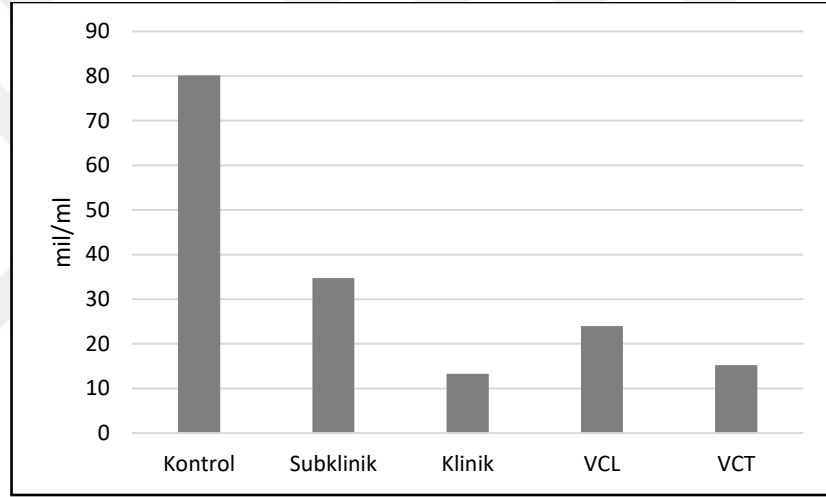
	Kontrol		Subklinik		Klinik		VCL		VCT	
	(n=10)		(n=10)		(n=10)		(n=20)		(n=10)	
	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS
Semen Hacimi (ml)	2,7^{b,e}	1,9	2,9	1,4	2,9^e	1,4	2,9	1,4	3,8^b	1,1
Sperm Konsatrasyonu (mil/ml)	80,1^{a,b,d,e}	34	34,7^d	21,9	13,3^e	8,6	24^a	19,5	15,2^b	5,9
Toplam sperm sayısı (mil)	190,2^{a,b,e}	78,5	80,9	36,1	74,6^e	80,3	77,7^a	60,7	62,3^b	36,1
Toplam motilite (%)	75,4^{a,b,d,e}	10,7	49,7^d	14,3	47^e	19,3	48,3^a	16,6	40,7^b	21,6
İleri hareketli sperm (%)	65,8^{a,b,c,d,e}	10,3	40,5^{d,g}	15,1	38,2^{e,h}	19,2	39,3^b	16,8	7,4^{a,g,h}	6,47
Yerinde hareketli sperm (%)	9,6^{b,c}	7,3	9,2^g	1,6	8,8^h	1,75	9^c	1,7	33,3^{b,c,g,h}	20,1
Hareketsiz sperm (%)	24,6^{a,b,d,e}	10,7	50,3^d	14,3	53^e	19,3	51,6^a	16,6	59,3^b	21,6
Normal morfoloji (%)	3^{a,b,d,e}	0,94	1,2^d	0,4	1,2^e	0,6	1,2^a	0,5	0,8^b	1

VCL: Varikosel, VCT: Varikosektomi

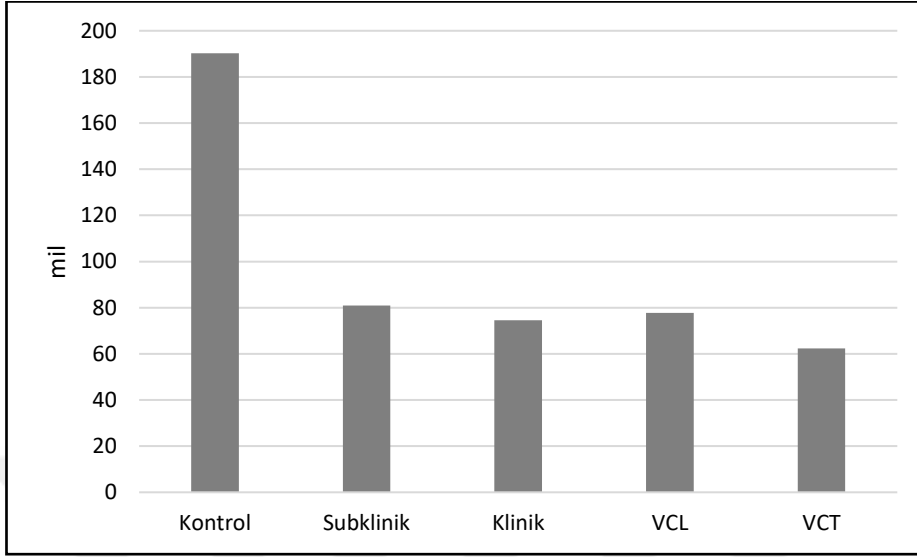
^a kontrol ile varikosel grubu arasında $p<0,05$, ^b kontrol ile varikosektomi grubu arasında $p<0,05$, ^c varikosel ile varikosektomi grubu arasında $p<0,05$, ^d subklinik varikosel ile kontrol grubu arasında $p<0,05$, ^e klinik varikosel ile kontrol grubu arasında $p<0,05$, ^f subklinik ile klinik varikosel grubu arasında $p<0,05$, ^g subklinik varikosel ile varikosektomi grubu arasında $p<0,05$, ^h klinik varikosel ile varikosektomi grubu arasında $p<0,05$



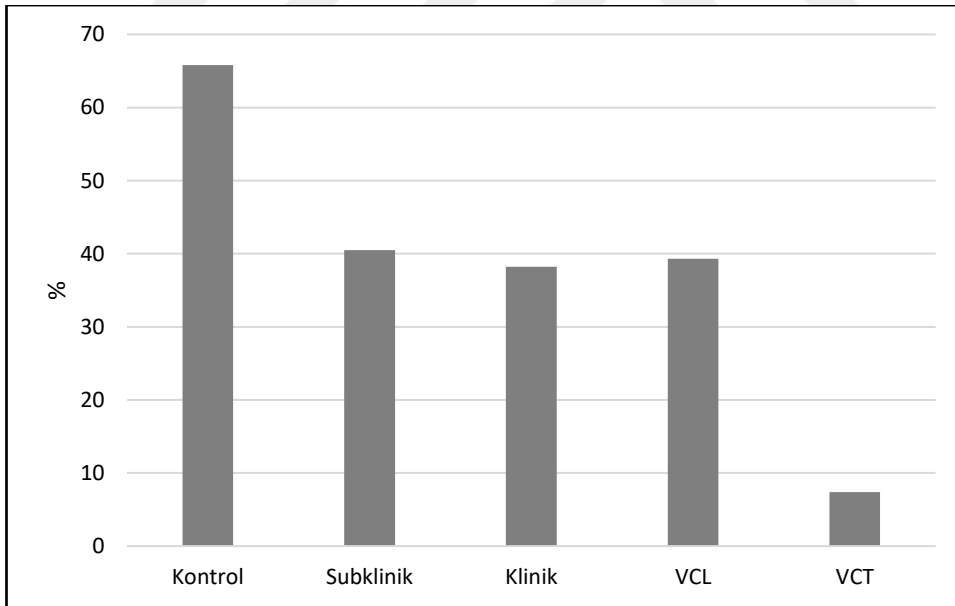
Şekil 6.2.2.1. Olguların semen hacmi değerleri grafiği



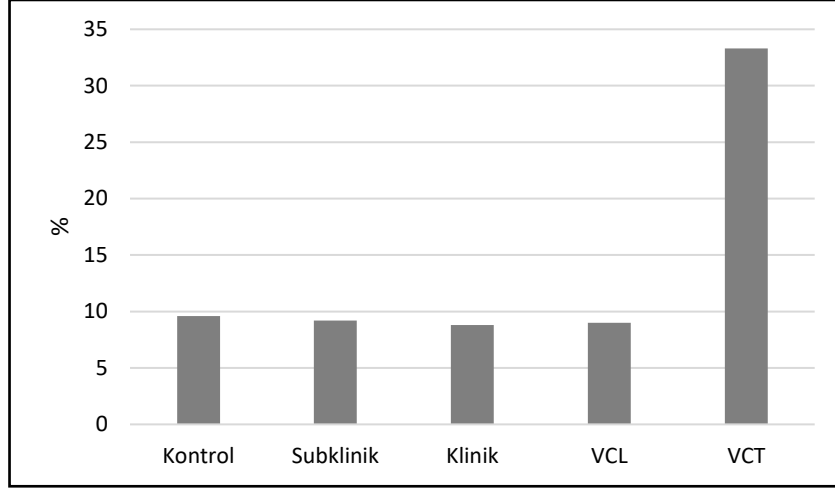
Şekil 6.2.2.2. Olguların sperm konsantrasyonu değerleri grafiği



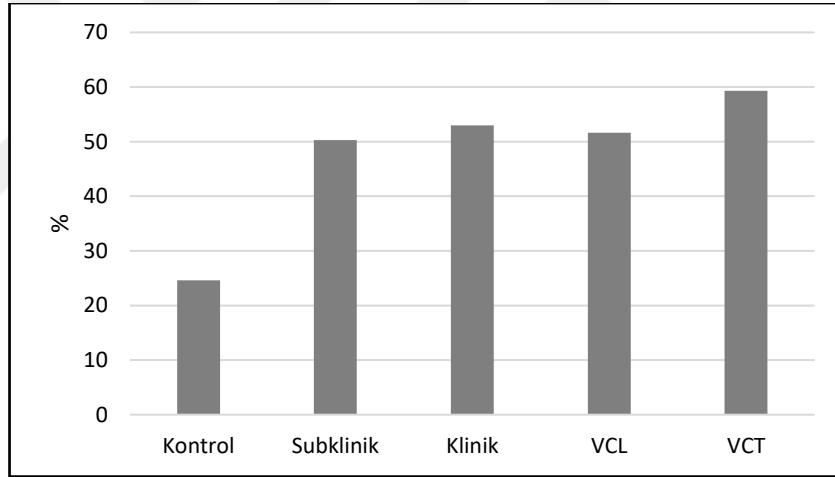
Şekil 6.2.2.3. Olguların toplam sperm sayısı değerleri grafiği



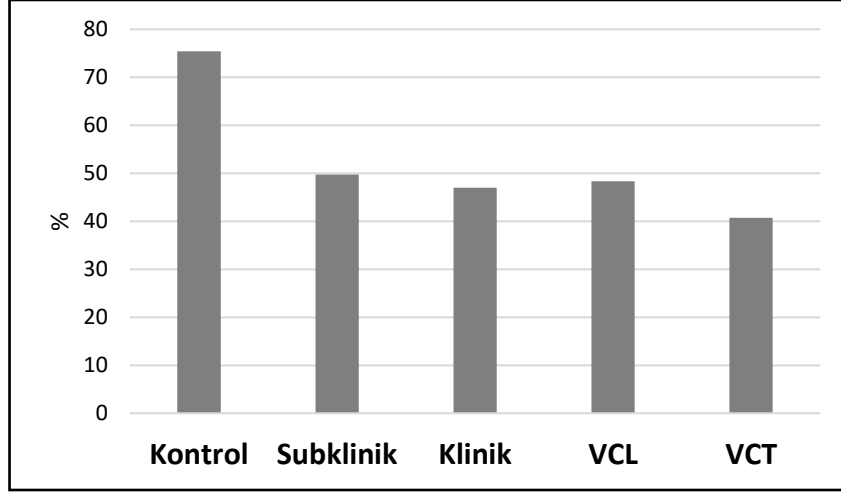
Şekil 6.2.2.4. Olguların toplam ileri hareketli sperm oranı değerleri grafiği



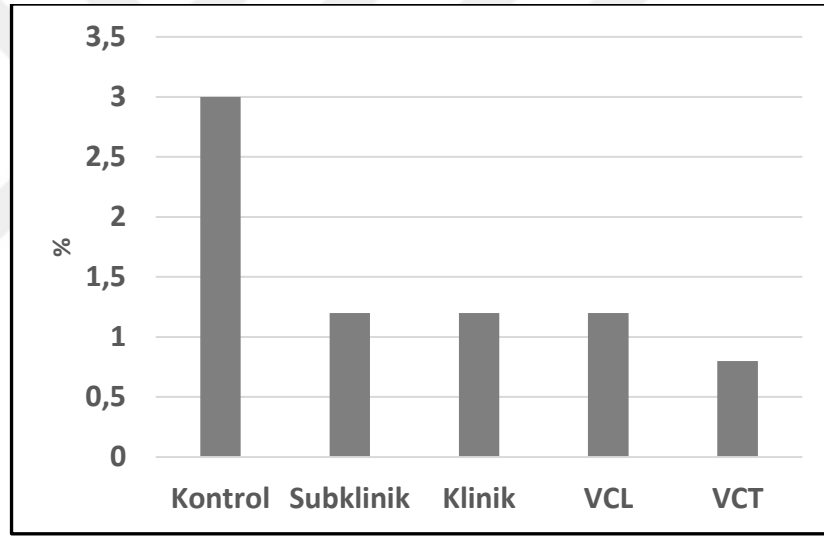
Şekil 6.2.2.5. Olguların toplam yerinde hareketli sperm oranı değerleri grafiği



Şekil 6.2.2.6. Olguların toplam hareketsiz sperm oranı değerleri grafiği



Şekil 6.2.2.7. Olguların toplam motilite oranı değerleri grafiği



Şekil 6.2.2.8. Olguların normal morfolojiye sahip sperm oranı değerleri grafiği

6.2.3. Kromatin yapısı analizi

Olguların kromatin yapısı inceleme sonuçları Tablo 6.2.3.1’de gösterilmiştir. Kontrol grubunda bozulmuş kromatine sahip koyu renkli boyanan sperm oranı, subklinik varikozel ($p=0,013$) klinik varikozel ($p<0,001$) ve varikozektomi grupları ($p<0,001$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. Subklinik varikozel grubunda bozuk kromatin oranı klinik varikozel ($p<0,001$) ve varikozektomi gruplarından ($p<0,001$) anlamlı derecede düşük bulundu.

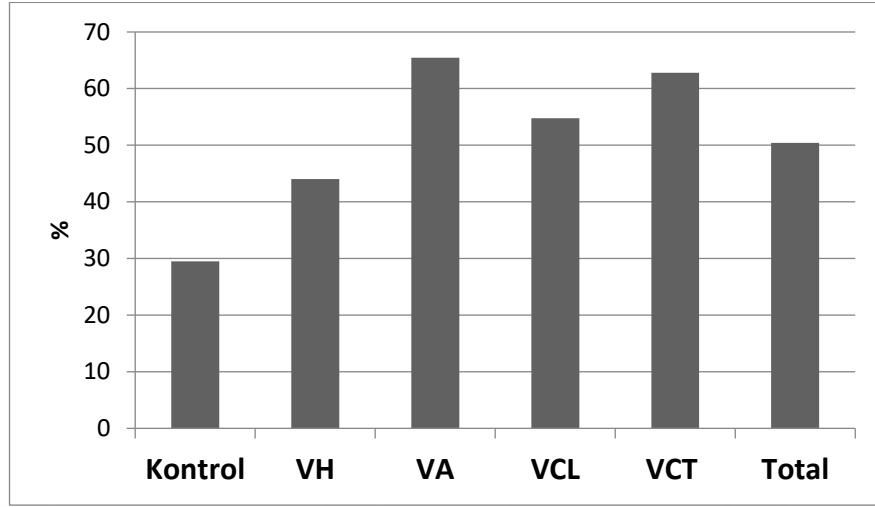
Tüm varikozel olguları ele alındığında (VCL) kromatin hasarı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunurken ($p=0,001$) varikozektomi grubu arasında ise anlamlı fark bulunmadı ($p<0,05$). Tüm gruplar arasında en fazla kromatin hasarı klinik varikozel ve varikozektomi gruplarında gözlemlendi (Şekil 6.2.3.1). Kromatin yapı analizi örneği Resim 6.2.3.1 ’de gösterilmiştir.

Tablo 6.2.3.1. Olguların kromatin hasarı ortalama ve standart sapma değerleri

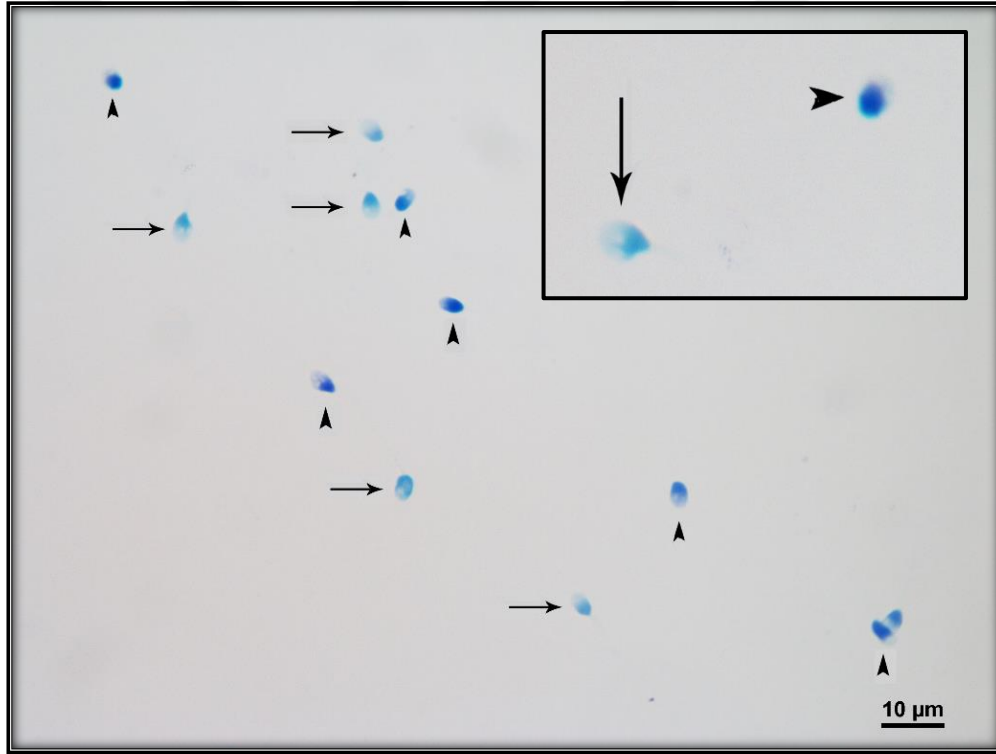
	Kontrol (n=10)		Subklinik (n=10)		Klinik (n=10)		VCL (n=20)		VCT (n=10)		Total (n=40)	
	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS
Kromatin Hasarı %	29,5^{a,b,d,e}	9,6	44^{d,f,g}	9,6	65,5^{e,f,h}	12,2	54,7^a	15,3	62,8^b	8,2	50,5	17,7

VCL: Varikosel, VCT: Varikoselektomi

^a kontrol ile varikosel grubu arasında $p<0,05$, ^b kontrol ile varikoselektomi grubu arasında $p<0,05$, ^d subklinik varikosel ile kontrol grubu arasında $p<0,05$, ^e klinik varikosel ile kontrol grubu arasında $p<0,05$, ^f subklinik ile klinik varikosel grubu arasında $p<0,05$



Şekil 6.2.3.1. Olguların kromatin hasarı oranı grafiği



Resim 6.2.3.1. İnsan sperm hücrelerindeki kromatin yapı analizi örneği: Ok işareti kromatin yapısı sağlam spermelerin baş kısmındaki açık mavi boyanmayı göstermektedir. Ok başı kromatin hasarı olan spermelerin baş kısmındaki koyu mavi boyanmayı göstermektedir.

6.2.4. DNA fragmentasyonu oranı (Sperm Chromatine Structure Assay-SCSA)

Olguların improved SCSA tekniği ile belirlenmiş DNA fragmentasyonu sonuçları Tablo 6.2.4.1’de gösterilmiştir. Kontrol grubunda DNA fragmentasyonu subklinik varikozel ($p<0,001$) klinik varikozel ($p=0,001$) ve varikozektomi ($p<0,001$) gruplarından anlamlı derecede düşük bulundu.

Tüm varikozel olguları ele alındığında (VCL) DNA fragmentasyonu kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p=0,011$). Diğer gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmadı ($p<0,05$). Tüm gruplar arasında en fazla DNA fragmentasyonu varikozektomi grubunda görüldü (Şekil 6.2.4.1).

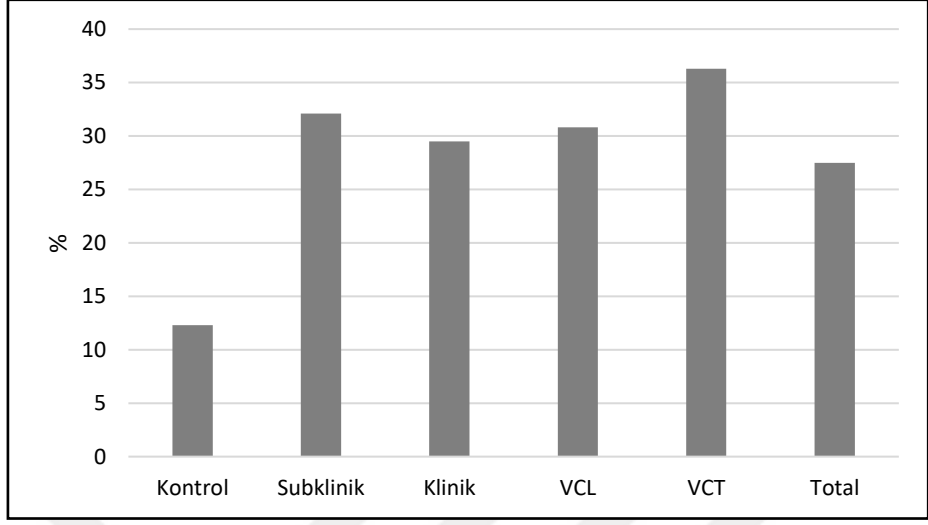
DNA fragmentasyon analizi örneği Resim 6.2.4.1 ve Resim 6.2.4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 6.2.4.1. Olguların DNA fragmentasyonu ortalama ve standart sapma değerleri

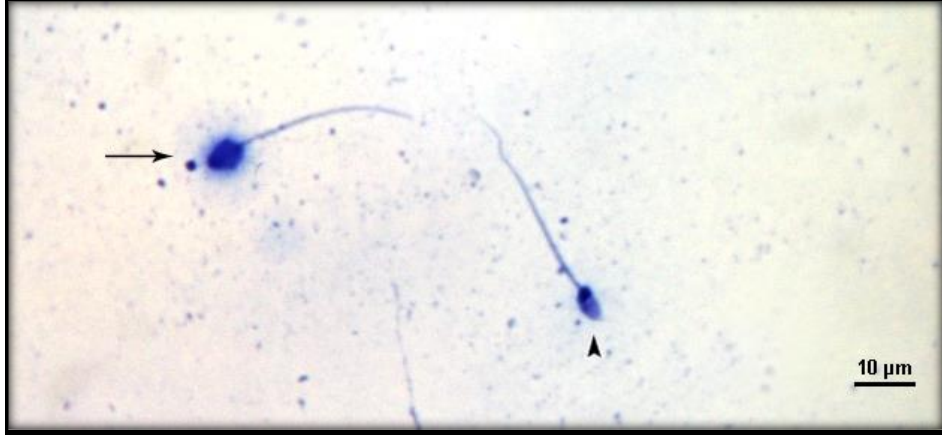
	Kontrol		Subklinik		Klinik		VCL		VCT		Total	
	(n=6)		(n=6)		(n=6)		(n=12)		(n=6)		(n=24)	
	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS
DNA Fragmentasyonu (%)	12,3 ^{a,b,d,e}	2,5	32,2 ^d	4,6	29,5 ^e	7,7	30,8 ^a	6,2	36,3 ^b	8,4	27,5	11

VCL: Varikozel, VCT: Varikozektomi

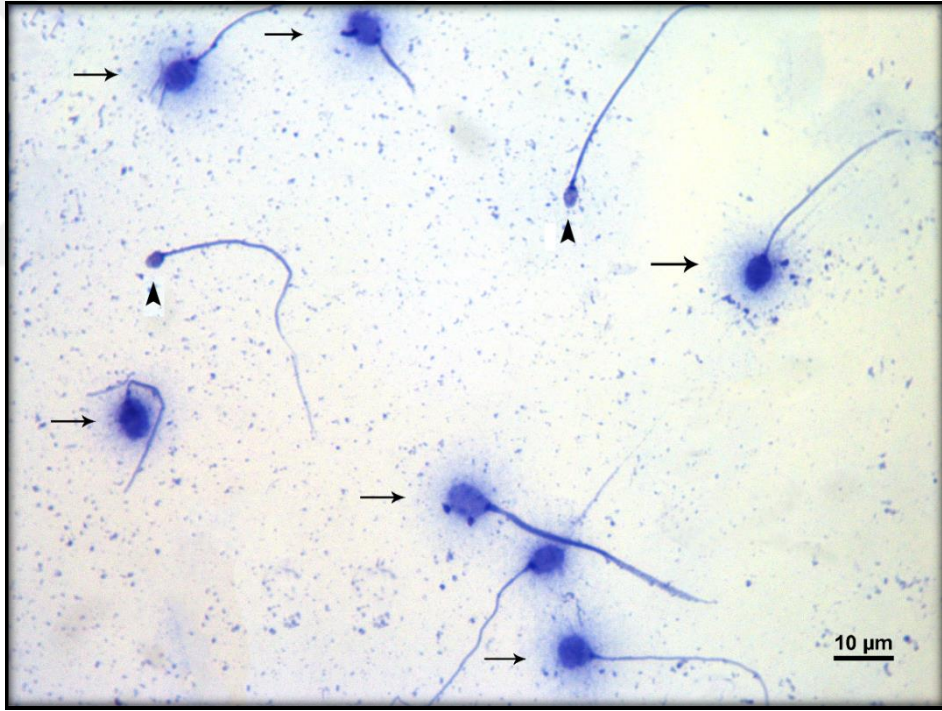
^a kontrol ile varikozel grubu arasında $p<0,05$, ^b kontrol ile varikozektomi grubu arasında $p<0,05$, ^d subklinik varikozel ile kontrol grubu arasında $p<0,05$, ^e klinik varikozel ile kontrol grubu arasında $p<0,05$



Şekil 6.2.4.1. Olguların DNA fragmantasyonu grafiği



Resim 6.2.4.1. Olgularda sperm Chromatine Structure Assay yöntemi ile DNA fragmentasyonunun gösterilmesi: Ok normal halo yapısına sahip sperm başını, ok başı halo yapısı gözlenmeyen DNA fragmentasyonu hasarlı spermi göstermektedir.



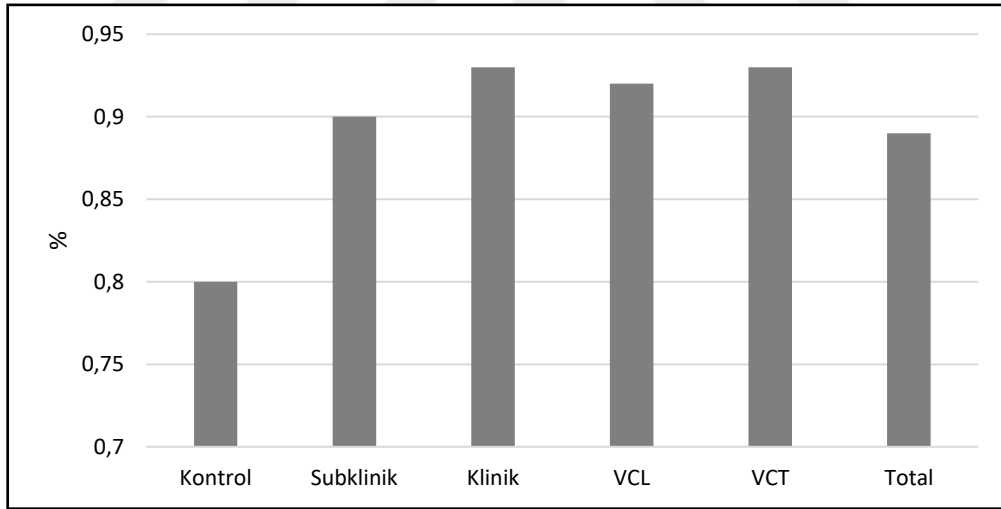
Resim 6.2.4.2. Olguların DNA fragmentasyonunu analizi örneği: Ok normal halo yapısına sahip sperm başını, ok başı halo yapısı gözlenmeyen DNA fragmentasyonu hasarlı spermi göstermektedir.

6.2.5. Olguların oksidatif stres parametreleri:

Oksidatif stress indexi (OSİ) değerleri (ortalama±standart sapma) Tablo 6.2.5.1’de gösterilmiştir. En yüksek OSİ değerleri klinik varikozel ve varikoselektomi gruplarında görüldü (Şekil 6.2.5.1). Ancak tüm gruplar arasında OSİ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p<0,05$).

Tablo 6.2.5.1. Oksidatif stress parametreleri ortalama ve standart sapma değerleri

	Kontrol		Subklinik		Klinik		VCL		VCT		Total	
	(n=10)		(n=10)		(n=10)		(n=20)		(n=10)		(n=40)	
	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS
OSİ	0,8	0,5	0,9	0,3	0,9	1,3	0,9	0,9	0,9	0,5	0,9	0,7



Şekil 6.2.5.1. Olguların oksidatif stres indexi grafiği

6.2.6. PARP-1 ve ERK 1/2 yollakları parametreleri:

Olguların PARP-1 ve ERK 1/2 proteinlerinin ekspresyon değerlerinin (ortalama±standart sapma) değerleri Tablo 6.2.6.1’de gösterilmiştir.

PARP-1 proteini ekspresyonu en fazla klinik varikozel ve varikozektomi gruplarında, en dşuk kontrol grubunda gözlendi (şekil 6.2.6.1). Kontrol grubunda PARP-1 proteini ekspresyonu subklinik ($p=0.046$), klinik varikozel ($p=0,001$) ve varikozektomi ($p=0,002$) gruplarından anlamlı derecede dşuk bulundu. Varikozel olgularında PARP-1 proteini ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,02$). Diğer gruplar arasında ise anlamlı farklılık bulunmadı ($p<0,05$).

ERK 1/2 proteini ekspresyonu ortalama değerleri birbirine yakın olmakla birlikte en dşuk subklinik varikozel en yüksek varikozektomi grubunda gözlendi (şekil 6.2.6.2). Olguların ERK 1/2 proteini ekspresyonlarında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p<0,05$).

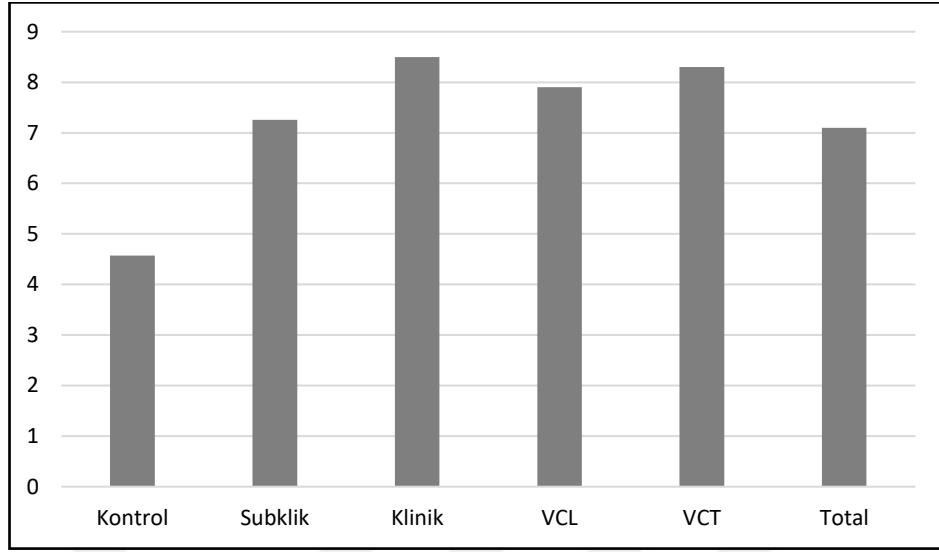
PARP-1 ve ERK 1/2 proteini analizi rnekleri Resim 6.2.6.1’de gösterilmiştir.

Tablo 6.2.6.1. Olguların PARP-1 ve ERK 1/2 proteinleri ekspresyonlarının ortalama ve standart sapma değerleri

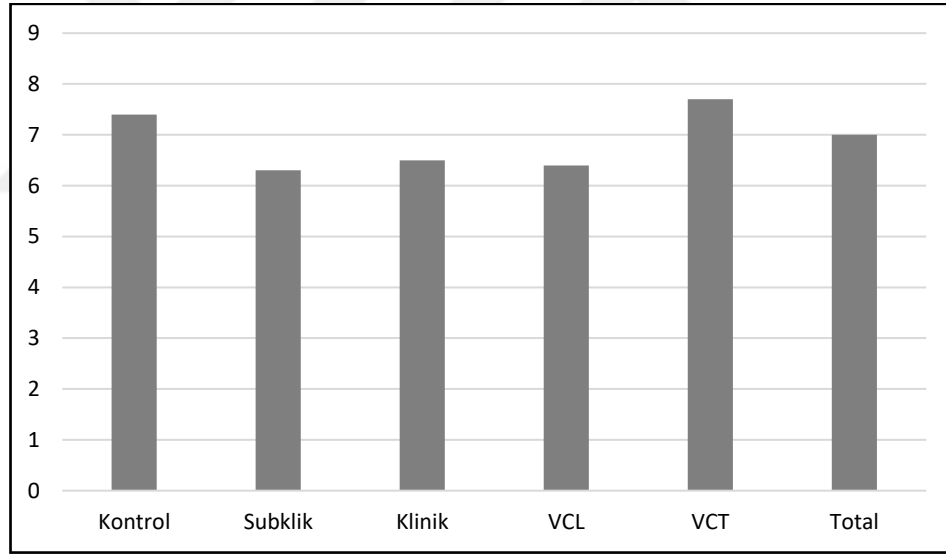
	Kontrol		Subklik		Klinik		VCL		VCT		Total	
	(n=10)		(n=10)		(n=10)		(n=20)		(n=10)		(n=40)	
	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS
PARP-1	4,6^{a,b,d,e}	1,7	7,3^d	2,5	8,6^e	2,5	7,9^a	2,5	8,3^b	2	7,2	2,6
ERK 1/2	7,5	3,4	6,3	2,9	6,5	1,5	6,5	2,2	7,7	2,5	7	2,6

VCL: Varikosel, VCT: Varikoselektomi

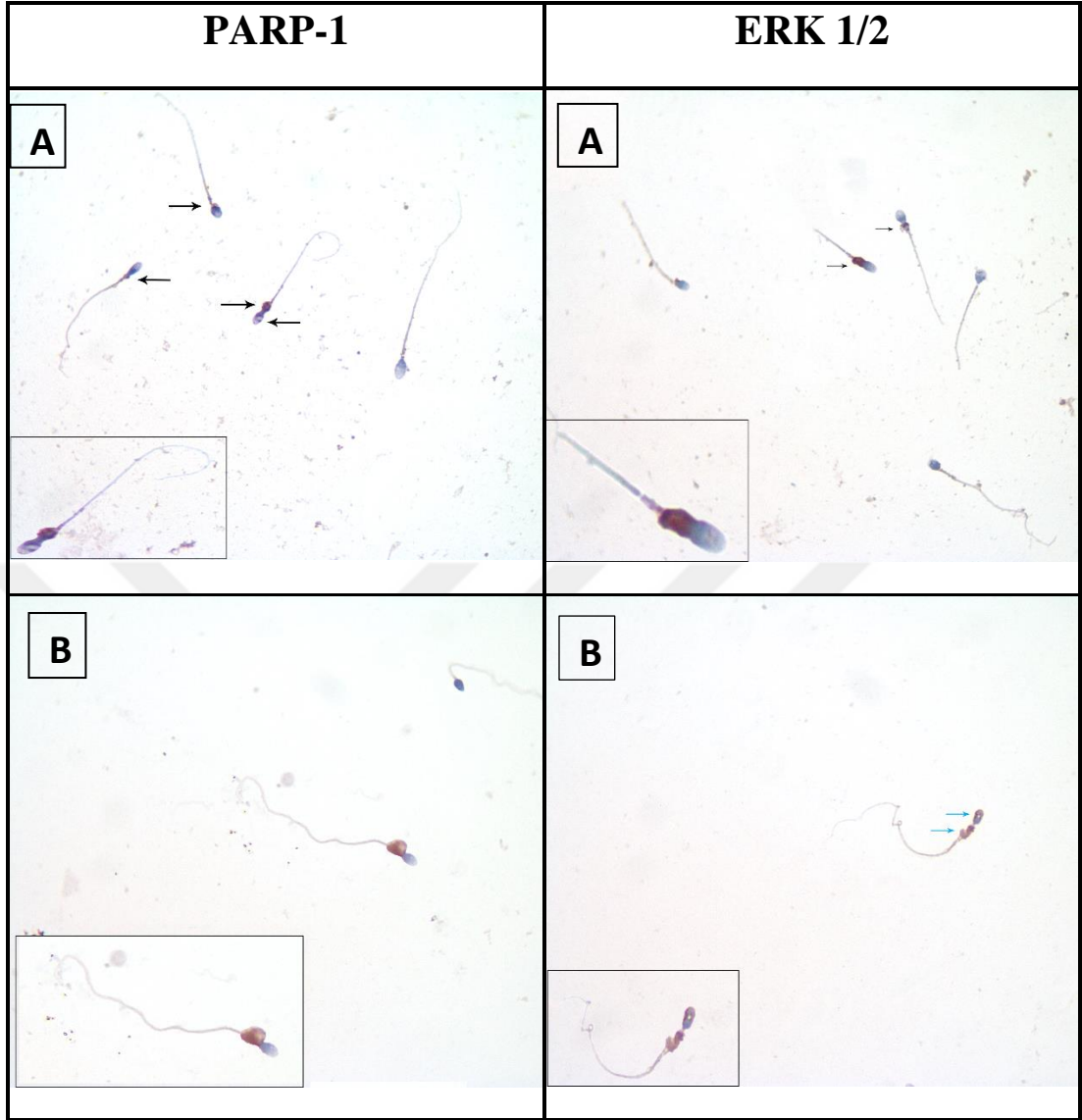
^a kontrol ile varikosel grubu arasında $p<0,05$, ^b kontrol ile varikoselektomi grubu arasında $p<0,05$, ^d subklinik varikosel ile kontrol grubu arasında $p<0,05$, ^e klinik varikosel ile kontrol grubu arasında



Şekil 6.2.6.1. Olguların PARP-1 protein ekspresyonu değerleri grafiği



Şekil 6.2.6.1. Olguların ERK 1/2 proteini ekspresyonu değerleri grafiği



Resim 6.2.6.1. Olguların PARP-1 ve ERK 1/ 2 ekspresyonu analizi örnekleri:
A: Oklar spermelerin baş ve boyun bölgelerindeki protein ekspresyonlarını işaret etmektedir. B: Stoplazmik droplet'te protein ekspresyonları

7. TARTIŞMA

Dünyada en yaygın erkek infertilite nedenlerinden biri olan varikosel, plexus pampiniformis'teki venlerin anormal dilatasyonu olarak tanımlanır. Varikosel hastalarında venöz stazın azalmasının, termodinamiği ve soğutma etkisini azaltarak düşük intraskrotal sıcaklığın korunmasında problem oluşturduğu düşünülmektedir (127). Sağlıklı erişkin erkeklerin %15-20'sinde rastlanır (128). Primer infertilite problemi yaşayan erkeklerde %20-40 oranında varikosel saptanmasına rağmen, varikoselli tüm hastalar infertil değildir veya seminal parametreleri normal değerlerde olabilir (129). Varikosel hastalarında görülen sıcaklık artışı, hipoksi, oksidatif stres ve toksik metabolitlerin birikmesi gibi olayların spermün üretildiği testis dokusu ve ortamında bozulmalara neden olduğu düşünülmektedir. Bu durum testisteki germ hücre gelişimini bozarak sperm kalitesini olumsuz etkileyebilir. Ancak sperm kalitesini etkileyen asıl mekanizma henüz tam olarak bilinmemektedir. Anatomik değişikliklerin testis ortamında spermatogenezi etkileyebilecek çok-faktörlü mekanizmaları tetiklediği düşünülmektedir (5).

Semen parametreleri

Literatürde varikoselin semen parametreleri üzerine etkisi hakkında farklı sonuçlar bildirilmiştir. Bazı araştırmalar tüm semen parametrelerinde bozulma olduğunu belirtirken bazı araştırmalar belli parametrelerde disfonksiyondan bahsetmiştir (130). Gill ve ark. varikosel hastalarında, varikosel olmayan infertil hastalara benzer şekilde standart semen parametre (sperm konsantrasyonu, toplam sperm sayısı, sperm motilite ve canlılığı) değerlerinin daha düşük olduğunu bildirmiştir (131). Blumer ve ark. grade II- III varikosel hastalarında semen hacmi ve immotile sperm oranında artış, sperm konsantrasyonu, ileri hareketli ve normal morfolojide sperm oranında ise azalma saptamıştır (132). Damsgaard ve ark. altı farklı Avrupa ülkesindeki varikosel hastalarının klinik bulgularını araştırmış, grade I varikosel hastalarında dahi semen hacmi hariç tüm semen parametrelerinde bozulma olduğunu ve varikoselin derecesi arttıkça semen parametrelerindeki dejenerasyonun da arttığını bildirmiştir (133). Andrade-Rocha farklı yaş gruplarındaki infertile varikosel hastalarında sperm canlılığı ve motilitesinde hasar olduğunu ancak sperm

konsantrasyonunun normal değerler sınırında olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada varikoselin özellikle sperm morfolojisinde meydana getirdiği hasar ortaya konmuş ve varikoselin sperm kalitesini sayısından daha fazla etkilediği vurgulanmıştır (134). Zini ve ark.ise hem varikosel hastalarında hem de idopatik infertile kişilerde sağlıklı fertile kişilere göre semen hacminde değişiklik bulunmazken sperm motilitesinin azaldığını bildirmiştir. Bu çalışmada da yine sperm morfolojisindeki bozulmanın en fazla varikosel hastalarında görüldüğü vurgulanmıştır (135). Agarwal ve ark. erişkin klinik varikosel hastalarının semen parametrelerini sağlıklı fertile kişiler ile karşılaştıran klinik araştırmaların meta analizi sonucu varikoselin sperm sayısı ve motilitesinde azalma ve sperm morfolojisinde bozulmaya neden olduğunu, semen hacmini ise etkilemediğini bildirmiştir (136). Pasqualotto varikosel hastalarının semen parametrelerinde gözlenen değişikliklerin sağlıklı fertile kişilerde de saptanabileceğini dolayısıyla varikoselin varlığının fertilitiyi dışlamadığını ve tüm hastalarda testis hasarına neden olmayabileceğini öne sürmüştür (137). Ancak Chehval ve Purcell normal semen parametrelerine sahip varikosel hastalarında zamanla (9 ila 96 ay) toplam sperm sayısı, sperm yoğunluğu ve motilitesi azalma gözlemiştir (138).

Bizim çalışmamızda varikosel hastalarında semen hacminde farklılık saptanmazken, sperm konsantrasyonu, toplam sperm sayısı ve ileri hareketli sperm, toplam motile ve normal morfoloji değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede farklılık gözlemlendi. Bu bulguları destekler şekilde varikosel modeli oluşturulan sıçanlarda da sperm sayısı ve hareketli sperm sayısında kontrole göre önemli derecede düşüş gözlemlendi. Bu bulgular, literatürde yer alan varikoselin sperm sayısı ve kalitesini olumsuz etkilediği yönündeki sonuçlar ile uyumludur.

Ven çapı:

Varikosel pleksus pampiniformis'teki venlerin anormal dilatasyonu ve torsiyonu vena testicularis'lerde geri akıma (retrograde flow) neden olur (139). RDUS venlerin çaplarının ölçümü, reflü akımın özellikleri gibi parametreleri değerlendirerek klinikte varikosel'in derecesinin belirlenmesinde (97% sensitivite ve %94 spesifite) kullanılır (127).

Literatürde venlerdeki dilatasyon miktarındaki artışın reflü akım ve varikoselin derecesi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (140–142). Varikosel tanısı klinik muayenede palpasyon ile konulsa da bazı varikoz venler asemptomatik veya palpe edilemeyecek boyutta olabilir (143). Varikosel'in palpe edilebilir olması ven çapındaki artış ile ilişkilidir (141). Ven çapında 2 mm üzerinde genişleme varikosel için tanı kriteri olarak kabul edilmektedir (10). Hoekstra ve Witt, ven çapları ile klinik muayene bilgilerini karşılaştırdığı çalışmasında, ven çapı 2.5 mm'in altındaki internal spermatic venlerin klinik muayenede palpe edilemezken, çapı 3-3.5 mm olan venlerin klinik muayenede palpe edilebilir olduğunu bildirmiştir. Ayrıca bu çalışmada venöz geri akımın çapı 3 mm'in üzerindeki venlerde ortaya çıktığı saptanmıştır (144). Mahdavi ve ark., klinik ile subklinik varikoseli ayırt etmede ultrason değerlendirmesinde maksimum genişleyen ven çapının supin pozisyonda Valsalva manevrası ile 2.6 mm, Pilatz ve ark. ise 2.95 mm, diğer araştırmacılar ise 3 mm'i üzerinde olmasının eşik değer olarak kabul edilebileceğini belirtmiştir (120,141,142,145,146).

Avrupa Üroloji Derneği 2020 yılında yayınlanan kılavuzunda skrotal ultrasonografi değerlendirmesinde ayakta pozisyonda Valsalva manevrası sırasında ölçülen spermatic ven çapı 3 mm üzerinde olan hastaları klinik varikosel olarak tanımlamıştır (121). Biz de çalışmamızda bu tanımı baz alarak ultrasonografi değerlendirmesi sırasında Valsalva manevrası sırasında ölçülen maksimum ven çapı 3 mm üzerinde olan hastaları klinik, 3 mm'in altında olan hastaları ise subklinik varikosel olarak gruplandırdık. Bu iki grup arasında karşılaştırma yaparak ven çapının semen parametreleri ve infertilite ile ilişkili moleküler değişiklikler için bir belirteç olup olamayacağını saptamaya çalıştık.

Literatürde venlerdeki dilatasyon miktarı ile semen parametreleri arasındaki ilişki hakkında farklı sonuçlar bildirilmiştir. Baghari ve ark. RDUS'da ölçülen maksimum ven çapı ile sperm sayısı, toplam motilite ve normal morfolojini ilişkisini araştırmış, ven çapındaki artışın sadece sperm sayısı ile negatif bir ilişki gösterdiğini bulmuştur (11). Ghafoori & Rostampour ise sadece sperm motilitesinin ven çapı ve reflü zamanı arttıkça azaldığını belirtmiştir (140). Mahdavi ve ark. ise semen hacmi, sperm morfolojisi, sayısı, motilitesi ile varikoz venlerin çapı arasında korelasyon saptarken, testis boyutları ile ilişki bulamamıştır (146). Rehman ve ark. ise, sadece

progresif motilite ile ven çapı arasında zayıf korelasyon bulunmuş, sperm hasarının ven çapı ile belirlenemeyeceğini belirtmiştir (127). Jandaghi ve ark. ise hem ayakta hem de sırtüstü pozisyonda yapılan real time ultrasonografi değerlendirmesinde, ven çapındaki 0.25 mm'lik değişimin anormal ile normal spermatogenezli hastaları ayırt etmede tanısal eşik değer olarak kullanılabilceğini öne sürmüştür (147).

Bizim çalışmamızda subklinik varikozel (ven çapı<3 mm) hastalarında sperm konsantrasyonu, ileri hareketli sperm, toplam motile ve normal morfoloji değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu. Klinik varikozel (ven çapı>3 mm) hastalarında ise semen hacmi daha yüksek iken sperm konsantrasyonu, toplam sperm sayısı ve ileri hareketli sperm, toplam motile ve normal morfoloji değerlerinin kontrol grubuna göre düşük olduğu gözlemlendi. Ancak klinik hastalar ile subklinik grubundaki hastalar arasında semen parametrelerinde istatistiksel farklılık bulunmadı. Bu bize, varikozelde ven çapı artış düzeyinin (ven çapının eşik değerden düşük ya da yüksek olmasının) klinik sonuçlar açısından belirgin bir etkisinin olmadığını, olumsuz etkinin ortaya çıkması için tek başına varikozel varlığının yeterli olabileceğini düşündürmüştür. Yukarıda bahsedilen çalışmalar ven çapı artışının varikozelin şiddeti ile korelasyon gösterdiğini belirtilse de bu çalışmada varikozelin derecesi ile ilişkilendirilen diğer parametreler değerlendirilmemiştir. Varikozelin şiddetinin semen parametrelerine etkisinin tam olarak ortaya konabilmesi için sadece en çok genişleyen ven çapı değil varikoz ven sayısı, reflü akım varlığı ve derecesi, varikozelin süresi gibi başka parametrelerin etkisinin de detaylı olarak araştırılması gerekmektedir.

Varikozektomi:

İnfertil varikozel hastalarının tedavisinde spermatik venlerin ligasyonu 1950 yılından beri standart prosedür haline gelmiştir (148). Ancak, bu işlemin tedavi sonuçları ve moleküler düzeydeki etkileri hakkında çok az şey bilinmektedir. Literatürde yapılan pek çok çalışmaya rağmen varikozektomi'nin semen parametreleri üzerine etkisi hala belirsizliğini korumaktadır. Varikozektomi operasyonundan sonra sperm sayısında artış ilk kez Tulloch tarafından ortaya konmuştur. Tulloch aynı zamanda bir varikozel hastasından operasyon öncesi alındığı biyopsi örneklerinde tubuli seminiferi'de hücre artıkları bulunduğunu ancak

spermatozoa bulunmadığını gözlemlemiştir. Aynı hastanın operasyon sonrası alınan doku örneğinde ise tubuli seminiferi'de spermatogenez'in germinal hücre dönüşüm aşamalarının normale döndüğü görülmüştür (149). Varikosektomi sonrası semen parametrelerinde %30 ila %60 oranında iyileşme bildiren çok sayıda klinik çalışma bulunmaktadır (150). Bu çalışmalar varikosektomi operasyonunun sperm konsantrasyonu, motilite ve morfolojisinde iyileşme sağlayarak infertiliteye karşı etkin bir tedavi seçeneği olduğunu savunmaktadırlar (151–153). Ancak bu durumun aksini bildiren çalışmalar da mevcuttur (148,154–156). Addar ve ark. şiddetli oligospermi hastalarında varikosektomi operasyonu sonrası bazı hastalarda sperm motilitesinde anlamlı düşüş, %4 hastada ise post op azospermi saptamıştır. Bu çalışmanın sonucunda varikosektomi sonrası iyileşmenin infertiliteye etkisinin literatürde bildirilen büyüklüğünden az olduğunu belirtilmiştir (157). Enatsu ve ark. benzer şekilde şiddetli oligospermi hastalarında varikosektomi operasyonu sonrası tedaviye %41 oranında olumlu yanıt olduğunu ve tedaviden faydalanan hastaların sadece sperm sayısı 2 milyondan fazla olan hastalar olduğunu bildirmiştir (158). Son yıllar da bu konuda yapılan bazı meta analizlerde de aynı belirsizlik devam etmektedir. Evers & Collins literatürde varikosektominin sperm parametrelerini iyileştirdiğini gösteren çoğu klinik çalışmanın metodolojik açıdan yetersiz olduğunu, çalışmaların sonuçları kombine edilip daha geniş bir açıdan bakıldığında varikozel tedavisinin etkisiz olduğunu belirtmektedir (159). Locke ve ark., adolesan dönemdeki hastalarda varikosektomi'nin testis hacmi ve sperm konsantrasyonunu olumlu etkilediğini gösteren çalışmalarda düşük seviyede kanıt olduğunu belirtmiştir (14). Buna karşın, varikosektomi operasyonunun çocuk sahibi olma oranlarını, sperm yoğunluğundaki iyileşme ile ilişkili şekilde arttırdığı bildirilmiştir (160,161). Persad ve ark. ise cerrahi veya radyolojik herhangi bir tedavinin faydasının belirsiz olduğunu; ancak tedavinin gebelik şansını artırma ihtimali bulunduğu sonucuna varmıştır (162). Zadeh ve ark., subinguinal varikosektomi sonrası sperm sayısı, motilite ve morfolojisinde pre-op değerlere göre farklılık bulamazken, ameliyat sonrası antioksidan tedavi alan hastaların bu parametrelerinde düzelme bildirmiştir (163).

Çalışmamızda varikozel hastaları ile varikosektomi operasyonu geçiren hastaların semen parametreleri karşılaştırıldığında semen hacmi, sperm konsantrasyonu, toplam sperm sayısı, toplam motilite ve normal morfolojiye sahip

sperm oranlarında farklılık belirlenmezken, kontrol grubuna göre (sağlıklı bireyler) sperm parametrelerinin birçoğunda anlamlı azalma (sperm konsantrasyonu, toplam sperm sayısı, toplam motilite oranı, ileri hareketli sperm oranı ve normal morfolojiye sahip sperm oranı) saptandı. Bu bize varikosektomi operasyonunun varikozel tedavisinde sperm parametreleri için olumlu etkiye sahip olmadığını düşündürmektedir.

Amerikan Üroloji Derneği (AUA), Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM) ve Avrupa Üroloji Derneği kılavuzları varikosektomi endikasyonu olarak klinik varikozel ve bir veya daha fazla anormal semen parametresi olan infertil erkekleri göstermekte, subklinik varikozel veya normal semen parametreleri olan hastalarda varikosektomi önerilmemektedir (55,164). Ancak subklinik varikozelin tanı ve tedavisi ile ilgili görüş birliği bulunmamaktadır (165). Biz bu çalışmada Avrupa Üroloji Derneğinin Kılavuzunda Valsalva manevrası sırasında ölçülen maksimum ven çapı 3 mm'in üzerinde olan hastaların klinik varikozel olarak tanımlanmasını baz alarak(121), ven çapı 3 mm üzerinde olan hastaları klinik, altında olan hastaları subklinik varikozel olarak katogorize ettik.

Jarow, varikozelin şiddetinin varikosektomi operasyonundan sonra semen parametrelerindeki iyileşme için belirleyici olabileceğini, daha büyük varikoz ven görülen hastalarda post-op iyileşme oranlarının daha iyi olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada varikosektomi sonrası olumlu sonuçlar için hasta seçiminde ven çapının 3 mm'in üzerinde olmasının eşik değer olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir (142). Literatürde ven çaplarına göre varikosektominin başarısını araştıran başka çalışmaya rastlayamadık. Ancak Pierik ve ark. venlerdeki dilatasyon muayene sırasında palpe edilebilen klinik ve subklinik varikozel hastalarını karşılaştırdığı çalışmada iki grup arasında iyileşme açısından farklılık bulunmadığı ve hem klinik hem subklinik varikozel hastalarının varikosektomiden fayda görebileceğini bildirmiştir (166).

Çalışmamızda, hem subklinik (ven çapı<3 mm), hem de klinik (ven çapı>3 mm) varikozel grubunun semen parametrelerinin, varikosektomi grubuna göre farklı olmadığı ortaya konulmuştur. Bu bulgu, ven çapının (maksimum genişleme gösteren damar çapının ölçümü) varikosektomi operasyonunu için bir belirleyici olmayacağını düşündürmektedir. Ancak bu iddianın da kanıtlanabilmesi ven çapının

yanı sıra dilate olan ven sayısı, reflü akım varlığı ve derecesi, varikoselin süresi gibi başka parametrelerin etkisinin de detaylı olarak araştırılması gerekmektedir.

Testis dokusu:

Testisler hem üreme hem de endokrin sistemin birleşenlerini oluşturan bir çift organdır. Testis lobüllerin içerisinde tubuli seminiferi (tubuli seminiferi concerti ve tubuli seminiferi recti) denilen kanallar yer alır, bu kanallarda yer alan germ hücrelerinin farklılaşması ile sperm üretimi gerçekleşir (spermatogenez). Tubuli seminiferi'lerin etrafında yerleşen Leydig hücrelerinden testosteron hormonu salgılanır (167). Testis'lerin normal fonksiyon görebilmeleri için vücut ısısından 2-4°C daha düşük sıcaklıkta olmaları gerekmektedir. Bu sebeple fetal hayatta karın boşluğu içerisinde gelişen testisler, daha sonra perine bölgesinde yer alan scrotum içerisine yerleşir. Testislerin scrotum içerisindeki konumu ve plexus pampiniformis'teki venlerin oluşturduğu ısı değişim mekanizması spermin üretimi için optimal sıcaklık sağlar. Varikoselde plexus pampiniformis içerisindeki venlerin yapısında oluşan deformasyonların testis dokusunun perfüzyon ve ısı regülasyon mekanizmalarını olumsuz etkileyerek testis hipotrofisi, Sertoli hücreleri, spermatogonia ve tubuli seminiferi'ler sayısında azalma ve yapısal değişiklikler ile sonuçlanabilir (168). Bazı araştırmacılar çocukluk ve erişkinlik çağındaki varikozel hastalarında sol testis hacminin sağa göre azaldığını, varikosektomi sonrasında ise hastaların %70-80'inde sol testis boyutunun sağ testis boyutuna ulaştığını bildirmiştir (169). Amerikan Üroloji Derneği ve Amerikan Üreme Tıbbı Derneği uygulama rehberi de erişkin tek taraflı varikozel hastalarında eğer testis hacminde diğer testise göre azalma varsa varikosektomi uygulanmasını önermektedir (47). Diamond ve ark. testis volümü %10 azaldığında, sperm konsantrasyonu ve motilitesinin azaldığını, hipotrofinin %20 den fazla olduğunda ise parametrelerin çok daha anormal olduğunu bildirmiştir (170). Güzel ve ark. benzer şekilde ileri derecede varikozel hastalarında sağ ve sol testis volüm farkının %20 ve üzerinde olduğu durumlarda, semen parametrelerinin olumsuz etkilendiğini ve hastalara cerrahi onarım önerilmesi gerektiğini bildirmiştir (107). Yamamoto ve ark. ergenlik çağındaki varikozel hastalarında cerrahinin etkilerini incelediği çalışmada testis hacminin varikozel hastalarında azaldığını, varikosektomi sonrası ise tekrar artarak kontrol grubundaki değerlere yakın hale

geldiğini bildirmiştir. Bu çalışmada artan testis hacminin yanı sıra operasyon sonrası sperm konsantrasyonunun da arttığı bildirilmiştir (171). Locke ve ark. ise ergenlik çağında varikosektomi operasyonu yapılan ve opere edilmeyen hastaları karşılaştıran klinik araştırmaların meta analizi sonucunda cerrahi veya radyolojik tedavi gören hastalarda testis hacminin ve sperm sayısının konservatif tedavi görenlere göre arttığını ancak sperm motilitesi ve morfolojisinde anlamlı düzelme olmadığını belirlemiş ve varikoselin radyolojik ve cerrahi tedavisinin testis boyutları ve sperm parametrelerini iyileştirdiğine dair düşük ila orta seviyede kanıt bulunduğunu ifade etmiştir (14). Bu bulguyu destekler şekilde Zhou ve ark. ergenlik dönemindeki varikozel hastalarında varikosektomi operasyonu geçiren ve ameliyat olmayan hastaları karşılaştıran klinik araştırmaların sonuçlarını incelediğinde testis hacminde iki grup arasında fark gözlenmesine rağmen semen parametrelerinde farklılık bulunmadığını gözlemlemiştir (172).

Cavallini ve ark. varikosektomi sonrası fertilité kazanan kişilerde çocuk sahibi olduktan sonra semen parametrelerindeki değişimi karşılaştırmış ve varikoselin oluşturduğu testis hacmindeki azalmanın babalık sonrası semen parametrelerindeki kötüleşme ile paralellik gösterdiğini bildirmiştir (173). Pierik ve ark. ise klinik ve subklinik varikozel hastalarında varikosektomi sonrası sperm sayısındaki iyileşmenin testis hacmindeki düzelme ile ilişkili olduğunu gözlemlemiştir (166). Buna karşın Nieschlag ve ark. varikosektomi operasyonu geçiren ile geçirmeyen hastaların karşılaştırıldığı çalışmada testis hacminde anlamlı bir düzelme olmadığını bildirmiştir (174). Papamikoloaou ve ark. erişkinlerde varikosektomi operasyonu sonrası testis hacminde düzelme sağlanmazken semen kalitesinin arttığını gözlemlemiştir. Bu çalışmada ergen ve erişkin hastalar arasında varikosektomi sonrası testis hacminde düzelme cevabının farklı olmasının cerrahi tedavinin erken dönemde uygulanmasının aciliyetini gösterebileceği yorumunda bulunulmuştur (175).

Çalışmamızda, varikozel hastalarında testis hacimleri prader orchidometer ile ölçüldüğünde normal sınırlar içerisinde belirlendiği için ve varikosektomi geçiren hastalarda post-op endikasyon bulunmadığı için ultrasonografi değerlendirmesine tabi tutulmadı. Çalışmamızda, sıçanlarda oluşturulan varikozel modelinden oluşmasından 10 hafta, varikosektomi operasyonundan ise 8 hafta sonrasında testislerde ortaya

ıkan değişiklikler (boyutları, ağrılığı ve histolojisi) incelendi. Testis hacmi açısından varikozel oluşturulan sıçanlar ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık belirlenmedi. Ancak varikozektomi grubunda operasyon tek tarafa yapıldığı için tek taraflı testis hacminin kontrol ve varikozel grubuna göre anlamlı derecede azaldığı, bilateral testis ağrılıklarında ise herhangi bir farklılık gözlenmediği belirlendi. Bu sonuç bize varikozektominin testis hacminde olumsuz etki oluşturduğunu düşündürmüştür. Bu etkinin cerrahi işlem sonrası dokuda meydana gelen dejenerasyon nedeniyle oluşabileceği düşünölmüştür.

Literatürde hayvan modelleri üzerinde yapılan araştırmalar bizim çalışmamıza benzer sonuçlar bildirmektedir. Celik ve ark. bizim çalışmamızdaki sonuçlara benzer şekilde varikozel modeli oluşturulan sıçanlarda testis ağrılığında değişiklik oluşmadığını bildirmiştir (176). Majd ve ark. 4 haftalık sıçanlarda varikozel modeli oluşumundan 2 ay sonra testis ağrılığı hariç, testis hacmi ve boyutlarında kontrol grubuna göre azalma bildirmiştir (177). Karna ve ark. ise varikozel modeli oluşturulan sıçanların testis ağrılıklarında azalma bildirmiştir (178).

Histopatolojik etki:

Literatürde ilk defa Saypol ver ark. sol renal venin parsiyel olarak ligate edilmesiyle deneysel varikozel modelini sıçan ve köpeklerde oluşturmuştur. Bu model ile oluşturulan varikozel modeli sonrası testis dokularının histopatolojik incelemesinde spermatogenezde bozulma bildirilmiştir (122). Başka bir çalışmada varikozel oluşturulan sıçanlarda germinal epitelde parçalanma, disorganizasyon ve tubuli seminiferilerde küölme ve spermatogenez sürecinde duraksamalar bildirilmiştir (179). Habibi ve ark. 5- 6 haftalık immature sıçanlar üzerinde yürüttüğü çalışmasında varikozelin Sertoli hücreleri ve spermatogonia sayısını önlemlili ölçüde azaltıp, tubuli seminiferi yapısında bozulmaya neden olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada özellikle varikozel oluşumundan 11 ve 13 hafta sonrasında enflamatuar süreçler sonucu testislerde dejeneratif özelliklerin daha belirgin olduğu gözlenmiş, varikozelin zararlı etkilerinin zamana bağlı olarak arttığı ve onarılamaz hale gelebileceği için tedavinin erken dönemde planlanmasının önemi vurgulanmıştır (168). Choi ve ark. varikozelin puberte, ergenlik ve erişkinlikteki etkisini karşılaştırmak amacıyla 4, 7 ve 12 haftalık sıçanlarda varikozel modeli oluşturmuş, testis dokusunda hasarın en fazla (sol testiste

%60 oranında) ergenlik dönemindeki (7 haftalık) sıçanlarda varikosel oluşumundan 4 hafta sonra gerçekleştiğini bildirmiştir. Bu çalışmada da tüm varikosel gruplarında belirgin şekilde germinal epitel bozulma, tubuli seminiferi'lerde atrofi ve ödem, Sertoli hücrelerinde hiperplazi gözlenmiştir (126). Buna karşın Kısa ve ark. ise 8 haftalık sıçanlarda varikosel oluşturulup 4 hafta sonrasında testis histolojisini incelendiğinde sperm paramterlerinde kontrol grubuna göre farklılık bildirirken, iki grup arasında histopatolojik değişiklik olmadığını bildirmiştir. Bu bulgular varikoselin histopatolojik sonuçlarının uzun dönemde ortaya çıkarken, moleküler ve fonksiyonel etkilerinin daha erken dönemde ortaya çıkabileceği şeklinde yorumlanmıştır (105). Ancak Hassani ve ark.erişkin sıçanlarda yapılan çalışmada varikoselden 60 gün sonra histolojik olarak tubuli seminiferi'lerde spermatogenezde bozulmanın yanı sıra sperm sayısı, canlılığı ve hareketliliğinde azalma bildirmiştir (180). Benzer şekilde bir başka çalışmada varikosel modeli oluşturulan 7-8 haftalık sıçanlarda 6 hafta sonra testis dokusunda tubuli seminiferi'lerde atrofi ve yapısında bozulma, germ hücre sayısında azalma bildirmiştir. Ayrıca kontrol grubuna göre varikosel grubunda spermatogenezini değerlendiren Johnson skorlama sonuçlarında da anlamlı azalma bildirilmiştir (181).

Armagan ve ark. varikosel modeli oluşturulan sıçanlarda, kontrol ve sham gruplarına göre testis ağırlıkları, Johnsen skorunda azalma ve tubuli semiferilerde dejenerasyon olduğunu, varikoselektomi sonrası ise bu parametrelerde düzelme olduğunu bildirmiştir (182). Ozturk ve ark. tek taraflı varikosel modeli uygulanan sıçanlarda her iki testis dokusunu inceledikleri çalışmada tubuli seminiferi yapısında bozulma, vakuoller ve interstisyel bağ dokuda kalınlaşma ve Leydig hücre sayısında azalma bildirmiştir. Bu çalışmada varikoselektomi sonrası histopatolojik hasarda anlamlı bir düzelme gözlenememiştir (183).

Özgür ve ark. varikosel hastaları ve varikoselektomi operasyonu geçiren hastaların testis biyopsi örneklerinde tubuli seminiferi, Sertoli hücreleri ve spermatogenezde dejenarasyon olduğunu, varikoselektomi geçiren hastalarda bu hasarların nispeten düzelmiş olmakla birlikte bahsi geçen dejenarasyonların hala devam ettiğini bildirmiştir (184).

Bizim çalışmamızda hem varikosel hem de varikoselektomi grubundaki sıçanların testis hücreleri incelendiğinde spermatojenik hücre yoğunluğunda azalma,

tubuli seminiferi lümenlerinde daralma, epitel organizasyonunda düzensizlik ve açılmalar, tubuli seminiferi'lerde germ tabakasını oluşturan hücrelerin sayısında azalmalar gözlemlendi. Ayrıca Johnsen skorlama sonuçları hem varikosel hem de varikoselektomi grubunda kontrol grubuna göre daha düşük iken, varikosel ve varikoselektomi grubu arasında Johnsen skorlamasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadı. Bu bulgular varikoselin testis dokusunda spermatogenezi olumsuz etkileyecek şekilde anlamlı seviyede yapısal hasar oluşturduğunu, ancak varikoselektominin bu hasarı düzeltmede olumlu etkisi olmadığını göstermektedir.

DNA fragmantasyonu, kromatin hasarı:

Literatürdeki çalışmalar varikoselin sperm kromatin yoğunlaşmasını olumsuz etkileyerek DNA hasarına yol açtığını hem hayvan modelleri hem de insanlar üzerinde ortaya konmuştur (180,185–187).

Spermatozoanın kromatin yoğunlaşması ve morfolojik değişiklikleri, spermatogenezin spermatid aşamasında meydana gelir ve eksik sperm kromatin yoğunlaşması nedeniyle sperm başı anormallikleri ortaya çıkabilir. Varikosel hastalarında normal morfolojiye sahip sperm sayısı ile ters orantılı şekilde kromatin yapısında bozulma gösterilmiştir (188). Aydos ve ark. DNA hasarı fazla olan infertil kişilerde semen parametrelerindeki hasarın da daha fazla olduğunu göstermiştir (189). Shabieb ve ark. infertilite şikayeti olan varikosel hastalarında DNA fragmantasyonu ile ROS seviyeleri arasında pozitif, total sperm sayısı, infertilite süresi ve varikoselin derecesi arasında ise negatif bir korelasyon olduğunu saptamıştır (20). Zini ve ark. infertil kişilerde DNA fragmantasyonunda artış olduğunu, bu artışın özellikle sperm motilitesi olmak üzere sperm konsantrasyonu ve morfolojisi değerlerindeki bozulma ile ilişkili olduğunu saptamıştır. Bu çalışmada DNA bütünlüğünün bozulmasının infertiliteye neden olduğu için bu hastalarda yardımcı üreme yöntemleriyle çocuk sahibi olmanın genetik diğer hastalıklar açısından risk oluşturabileceği görüşü savunulmuştur (89). Smit ve ark. ise testiküler yetmezlik veya varikoselde görülen spermatogenez disfonksiyonunun DNA fragmantasyonu artışı veya kromatin yapısının bozulmasıyla ilişkili olmadığını bildirmiştir (190).

Zini ve ark. klinik varikozel tanısı alan infertil hastalarda varikozektomi'den 6 ay sonra DNA fragmentasyonunda azalma saptamış, ancak semen parametrelerinde anlamlı düzelmeye rastlamamıştır. Bu çalışmada DNA yapısındaki düzelmelerin fertiliteye etkisinin araştırılması gerektiği belirtilmiştir (191). Aynı araştırmacı bir diğ er varikozektomi operasyonundan dört ay sonra DNA bütünlüğü ve sperm kromatin yoğunlaşmasında anlamlı artış bulunurken, semen parametrelerindeki artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmiştir. Bu çalışmada DNA hasarı ile ileri hareketli sperm sayısı arasında negatif korelasyon bildirilmiş, varikozektominin sperm kromatin yoğunlaşması ve DNA bütünlüğünde kalıcı bir iyileşme sağlayarak spermatogenezi iyileştirdiğini öne sürülmüştür (192). Kadioğlu ve ark. sperm motilitesi ile DNA fragmentasyonu arasında negatif korelasyon olduğunu ve varikozektomi operasyonunun sperm sayısı, ileri hareket ve normal morfolojideki sperm sayısını arttırdığını, DNA fragmentasyonu da azalttığını gözlemlemiştir (19). Sun ve ark. sol klinik ve sağ subklinik varikozel hastalarında hem bilateral hem de unilateral varikozektomi ameliyatı sonrası semen parametreleri ve DNA fragmentasyonunda düzelme bildirmiştir (165). Alhathal ve ark. varikozektomi sonrası semen parametreleri ve DNA fragmentasyonda düzelme bildirmiş, ayrıca DNA fragmentasyonu ile ileri hareketli sperm sayısında korelasyon saptamıştır (193).

Li ve ark. palpe edilebilir klinik varikozel tanısı konulan, anormal semen parametreleri saptanan hastalarda DNA fragmentasyonu ile ileri hareketli ve normal morfolojideki sperm sayısı arasında negatif bir ilişki olduğunu gözlemlemiştir. Bu çalışmada varikozektomi operasyonundan 3 ay sonra hastaların %63,2'sinin fayda gördüğü bildirilmiştir. Ancak bu hastalarda operasyon sonrası DNA fragmentasyonu sağlıklı kontrol grubundaki değerlere benzer seviyeye gelmesine rağmen, semen parametreleri hala kontrol grubundan düşük bulunmuştur. Araştırmacılar varikozektominin, muhtemelen oksidatif stresi azaltarak DNA fragmentasyonunu azalttığını ve sağlıklı bir spermatogenezin geri kazanılmasını sağlayabileceğini öne sürmüştür (194). Benzer şekilde anormal semen parametreleri olan, infertile varikozel hastalarında varikozektomi sonrasında ROS seviyelerinin ve DNA fragmentasyonunun azaldığı gözlenmiş, DNA fragmentasyonunun post-op prognozu saptamada belirteç olarak kullanılması önerilmiştir. Bu çalışmada, DNA fragmentasyon oranı, ROS seviyesi, varikozel derecesi ve infertilite süresi arasında

pozitif bir korelasyon olduğu ve varikosektomi tedavisine olumlu cevap veren hastalarda pre-op DNA fragmantasyon seviyesinin tedaviye cevap vermeyenlere göre daha az olduğu bildirilmiştir (20). Neto ve ark. ameliyat öncesinde DNA fragmantasyon değerleri yüksek olan hastalarda post-op düzelmenin daha belirgin olduğunu bildirmiştir (195). Tavalae ve ark. varikosektominin semen parametreleri, DNA fragmantasyonu ve gen ekspresyonunun esas düzenleyicilerinden biri olan DNA metilasyonu oranına etkisini incelemiştir. Bu çalışmada post-op semen parametrelerinde anlamlı iyileşme saptanırken, DNA metilasyonu değerlerinde anlamlı düzelme gösterilememiştir (21).

Öztürk ve ark. varikozel modeli oluşturulan sıçanlarda varikosektomi operasyonundan dört hafta sonrasında DNA fragmantasyonun azaldığını ancak sağlıklı kontrol grubu seviyesine inmediğini bildirmiştir (123). Najaran ve ark. varikozel modeli oluşturulan sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada varikosektominin tek başına faydalı olmakla beraber antioksidan tedavi ile desteklendiğinde DNA hasarındaki iyileşmenin daha fazla olduğunu belirtmiştir (196).

Bazı araştırmacılar varikosektomi'nin doğal veya yardımcı üreme teknikleriyle hamilelik başarısını arttırmada faydalı olabileceğini düşünürken (197), bazı araştırmacılar varikosektominin oksidatif stres ve DNA hasarını azaltarak sperm morfolojisinin düzeltilmesine rağmen, hamilelik başarısına etkisinin takip hastalarına üstünlük sağlamadığını öne sürmektedir (198). Smit ve ark. ven çapı 3 mm üzerinde olan oligospermatik varikozel hastalarında toplam ve ileri hareketli sperm oranı ve sperm konsantrasyonu değerlerinin varikosektomi sonrasında arttığını, DNA fragmantasyonunun azaldığını bildirmiştir. Aynı çalışmada ROS'un semen parametrelerinde iyileşme olmayan hastalarda bile azaldığı tespit, pre-op DNA fragmantasyon değerleri daha az olan hastalarda tedavi sonrası hamilelik oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (190). Tavalae ve ark. varikosektomi sonrası sperm morfolojisi, motilitesi, sayısı ve kromatin paketlenmesinde anlamlı düzelme saptamış, ancak çocuk sahibi olmayı başaran bireyler ile çocuk sahibi olamayanlar arasında hem pre-op hem de post-op parametrelerde farklılık saptamamıştır. Bu sebeple çocuk sahibi olmada DNA fragmantasyonu, sperm membran bütünlüğü, kapasitasyon ve akrozom reaksiyonlarına girme yeteneği gibi diğer etkenlerin veya bu

fonksiyonları etkileyebilecek faktörlerin (ROS ve epigenetik faktörler gibi) sorumlu olabileceği önerilmiştir (199).

Sonuç olarak literatürde varikoselin oksidatif strese sekonder olarak spermelerde DNA fragmantasyonuna neden olduğu, varikoselektominin ise DNA hasarını iyileştirmede etkili olduğu fikri üzerinde durulmasına rağmen çalışmaların hasta seçim kriterleri ve ameliyat yöntemleri açısından homojen olmaması, spesifik olarak hangi varikozel hastalarının fayda göreceği ile ilgili bilgi boşlukları oluşturmakta gibi görünmektedir (90,197) .

Bizim çalışmamızda hem kromatin hasarı hem de DNA fragmantasyonu oranı varikozel ve varikoselektomi gruplarında kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulundu. Varikozel ve varikoselektomi grupları arasında ise istatistiksel farklılık bulunmadı. Bu bulgular varikoselin DNA yapısını bozarak infertiliteye neden olduğu, varikoselektominin ise bu hasarı düzeltmede yetersiz olduğunu düşündürmektedir.

Subklinik ve klinik varikozel gruplarını incelediğimizde kontrol grubuna göre yüksek DNA ve kromatin hasarı bulunmasına rağmen birbirleri arasında anlamlı fark gözlenmedi. Kromatin hasarı ise klinik varikozel grubunda subklinik varikozel grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Bu durum bize varikoselin, derecesinden bağımsız olarak, spermde DNA hasarına neden olduğunu, ayrıca klinik varikozelde varikozel maruziyetinin daha şiddetli olması nedeniyle kromatinin bu hasarı tolere edemeyecek noktaya gelmesi nedeniyle kromatin hasarı olduğunu göstermektedir.

Oksidatif stres:

Canlıların enerji üretimi için oksidasyon kilit rol oynasa da oksijenin organik moleküller ile reaksiyona girmesi reaktif oksijen türevleri (ROS) oluşumuna yol açar. Optimal konsantrasyonlardaki ROS, diploid spermatogonia'dan olgun haploid spermatozoa'nın proliferasyonu ve olgunlaşma süreci üzerinde hayati bir etkiye sahiptir (200). Serbest radikallerin fizyolojik koşullarda spermatozoanın kapasitasyonunda, hiperaktivasyonunda ve füzyonunda rolü vardır. Reaktif oksijen ürünlerinin üretimindeki artış, antioksidan enzim aktivitesini inhibe edebilir ve oluşan potansiyel oksidatif stres sonucu olarak, infertiliteye sebep olabilecek lipid peroksidasyonu artış, sperm motilitesi, canlılığı ve fonksiyonlarında azalma ortaya

çıkabilir (78). Literatürde ROS'un yol açtığı sperm hasarı, %30-80 oranında infertilitenin ana sebebi olarak bildirilmiştir (18). Normal sağlıklı bireylerde seminal plazma, aşırı ROS üretiminin etkisini nötralize eden antioksidanlar içerir. Varikoselde testiküler hipoksi, skrotal sıcaklık artışı ve refleks metabolik olaylar gibi farklı etkenler ROS seviyelerinin yükselmesiyle sonuçlanabilir (177). Oksidatif stres, ROS ve antioksidan mekanizmalar arasındaki dengenin bozulmasıdır (17). Oksidatif stressin en önemli nedeni anormal sperm hücreleri ve enflamatuar olaylara karşı koruyucu rolü olan seminal lökositlerdir (194). Oksidatif stres artışının protein translasyonunu bozarak spermatogenez sırasında kusurlu sperm oluşumuna yol açabileceği öne sürülmektedir (189). Kusurlu sperm hücrelerinde oksidatif stres sonucu protaminasyon yetersizliği ve kromatin yapısının bozulması gibi dejenerasyonlar da DNA fragmentasyonu ile sonuçlanır. DNA yapılanmasındaki bu bozukluklar da hücrenin erken apoptoza girmesiyle sonuçlanabilir (201).

Mostafa ve ark. oligoasthenozoospermik varikozel hastalarının internal spermatik venlerinde ROS faktörü seviyelerinin yükseldiğini, antioksidan seviyesinde ise düşüş olduğunu bildirmiştir. Ancak bu durumun infertiliteden mi yoksa varikoselden mi kaynaklandığı belirsizdir (202). Agarwal ve ark. infertil varikozel hastalarında oksidatif stres parametrelerini araştıran klinik araştırmaların meta analizi sonucu bu hastalarda oksidatif stresin önemli ölçüde arttığını ve infertilite etiolojisinde rol oynayabileceğini bildirmiştir (203). Asadi ve ark., 7-8 haftalık sıçanlarda varikozel modeli oluşturulduktan 6 hafta sonra varikozelin testis dokusuna zarar verdiğini ve oksidatif stresi artırıp, anti-oksidan seviyelerini azalttığını gözlemlemiştir (181).

Dada ve ark. varikozel hastalarında DNA hasarı ve ROS seviyesinin arttığını, varikosektomi sonrası ROS seviyesinde hızlı (1. ayda), DNA hasarında ise daha uzun sürede bir düzelme olduğunu belirlemiş ve varikosektominin infertiliteye etkisinin 6 ay sonra ortaya çıkabileceğini belirtmiştir (204). Tiseo ve ark. varikozelin cerrahi olarak tamir edilmesinin oksidatif-stres ile ilişkili infertiliteyi hafifletmede doğru seçilmiş hastalarda faydalı olduğunu, varikosektomi kararı alınırken hasta seçim kriterlerinin önemli olduğunu öne sürmüştür (84). Mustafa ve ark. ultrason değerlendirmesinde ölçülen maksimum ven çapı 3 mm'in üzerinde olan klinik varikozel hastalarında, post-op semen ve oksidatif stress parametrelerinde düzelme

bildirmiştir. Bu çalışmada varikosektomi'nin özellikle grade III varikozel hastalarında daha faydalı olduğu vurgulanmıştır (205).

Bu çalışmada oksidatif stres indeksinde gruplar arasında farklılık bulunmadı. Çalışmamızın bulgularının, literatürle uyuşmamasının nedenin hasta sayısından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Apoptoz:

Varikozelde testislerde oluşan ısı artışı, spermatogenez sırasında spermatozoa'nın apoptoz veya nekrozu ile sonuçlanabilir (206) . Varikozele bağlı testiküler disfonksiyonun oksidatif stress ve eflamasyonun tetiklediği apoptozdan kaynaklanabileceği öne sürülmektedir (178). Ayrıca sperm nekrozu ve immatürasyonunun da varikozel hastalarında apoptozu arttırdığı bildirilmektedir (207,208).

Önceki çalışmalarda varikozel modeli oluşturulan sıçanlarda testis dokusunda bozulma ve apoptoz indexinde artış bildirilmiştir (178,209–211). Literatürde, varikozel süresi uzadıkça testislerde bilateral olarak apoptozun arttırdığı ve histopatolojik hasarın buna paralel olarak geliştiği gözlenmiştir (211,212). Fujisawa ve ark. varikozel hastalarından alınan testis biyopsi örneklerinde hem sağ hem de sol tarafta apoptoz indexinin azaldığını ancak apoptoz miktarının sperm konantrasyonu ve Johnson skorlama sonuçları ile ilişkili olmadığını bildirmiştir (213). Chen ve ark. varikozel hastalarında fertil erkeklere kıyasla ejakülattaki spermatozoalarda apoptozun arttığını, ancak bu artışın semen kalitesi ve sperm kinematığı ile ilişkili olmadığını bildirmiştir (206). Buna karşın Collodel ve ark., varikozel hastalarında hem sperm hücrelerinde apoptozun fazla olduğunu hem de sperm konantrasyonu, motilitesi, morfolojisi ile canlılığının bozulduğunu bildirmiştir (208). La Vignera ve ark. varikozel hastalarında sperm yoğunluğu, total sperm sayısı ve motilitesinde azalmaya ek olarak DNA fragmantasyonu ve apoptozun arttığını, varikosektomi operasyonunun bu parametrelerde düzelmeye sağladığını göstermiştir. Ayrıca DNA hasarının mitokondriden kaynaklanıp daha sonra hücre nukleusuna işleyen apoptotik mekanizmayla ilişkili olabileceğini ileri sürülmüştür (214). Kim ve ark. varikozel modeli oluşturulan sıçanların testis dokularında apoptoz indeksini arttırdığı,

varikoselektominin ise apoptoz indeksinde düzelme sağladığını, ancak Johnsen skorunda farklılık bulunmadığını bildirmiştir (215).

Sonuç olarak, yapılan çalışmalar varikozel patofizyolojisinde apoptozun etkin olarak rol aldığını göstermektedir. Ancak, varikozel hastalarında apoptoz yolları ve apoptozu tetikleyen mekanizmlar henüz tam olarak netleştirilememiştir.

PARP-1 proteini:

Poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) proteininin birincil işlevi, DNA kırılmalarını işaret ederek onarım yollarını uyarmak, ayrıca transkripsiyonu baskılayarak hasarlı genlerin ekspresyonunu önlemektir (111). Sıçanların testis doku örneklerinde spermiyogenezde kromatin yoğunlaşması sırasında PARP-1 sinyal yolağı aktivasyonunun DNA kırıklarına karşı koruyucu rolü olduğunu, kırıkların eksik onarımın ise genomik kararsızlığa yol açarak döllenme kapasitesini azalttığı gösterilmiştir (114). Ancak aşırı DNA hasarı varlığında PARP-1 proteininin aşırı aktive olması hücrede nükleer yoğunlaşmaya neden olarak apoptoz sürecini başlatır (112). Sonuç olarak PARP-1 proteini DNA hasarının derecesine göre hücrelerin hayatta kalmasını veya apoptoz yoluyla yok edilmesinde rol oynar.

İnfertil erkeklerin sperminde apoptozun bir belirteci olarak bölünmüş PARP-1 proteini seviyesi arttığı için, PARP-1 proteini sperm hasarının yeni bir belirteci kullanılabileceği belirtilmiştir (216). PARP-1 proteini ekspresyonu ile spermatozoa motilitesi arasında negatif bir korelasyon bulunmuştur (217). Gungor ve ark. oksidatif stresi tetikleyen doxorubicin (DOX) maddesi verilen sıçanlarda PARP-1 proteininin aşırı aktivasyonuna bağlı apoptoz ve testis hasarı oluştuğunu gözlemlemiş, PARP-1 inhibitörlerinin fertilitenin korunması için kullanılmasını önermiştir (112).

Tekcan ve ark. varikozel modeli oluşturulan sıçanların testis dokularında PARP-1 proteininin hem tam formunu hem de kırılmış formunu saptamıştır. Kırılmış PARP-1 ekspresyonunun varlığının, aşırı eksprese edilen PARP-1'in parçalanmasına bağlı olabileceği ve bu aşırı ekspresyonun varikozeldeki testis hasarıyla ilişkili olabileceğini bildirilmiştir (29). Celik ve ark. PARP aktivasyonunun son ürünü olan PAR proteininin, varikozel modeli oluşturulan sıçanların tubuli seminiferi'lerinde

ekspresyonunun yüksek olduğunu ortaya koymuş, PARP inhibitörü enjeksiyonunun ise PAR seviyesini kontrol grubuna benzer seviyeye indirdiğini göstermiştir (218).

Shiraishi ve ark. varikozel hastalarında scrotal ısı artışının testislerde PARP proteini aktivasyonunu artırarak apoptoz ve testis hasarına yol açtığını göstermiştir (30). El-domyati ve ark. genç ve yaşlı fertile kişilerin testis biyopsileri ile varikozel hastalarının testis örneklerinde PARP ekspresyonlarını karşılatmıştır. Bu çalışmada varikozel hastalarının spermatogonia'larında parçalanmış PARP-1 ekspresyonunun arttığı saptanmış, bu durumun DNA tamiri ve apoptozun erken evrede başladığının göstergesi olabileceğini belirtilmiştir. Aynı zamanda varikozel hastalarında PARP-1 ekspresyon seviyelerinin yaşlı fertil bireyler ile aynı olduğu saptanmış, varikozelin testis dokusunun erken yaşlanma süreci olarak düşünölebileceği belirtilmiştir (31).

Literatürdeki çalışmalar PARP-1 proteinin testis dokusundaki germ hücrelerinde göstermiş olup, bu çalışma bildiğimiz kadarıyla ejakölat ile atılan spermelerde PARP-1 proteini ekspresyonunu gösteren ilk çalışmadır. Çalışmamızda diğer çalışmalardan farklı olarak varikozektomi operasyonu sonrası PARP-1 proteini ekspresyon seviyelerindeki değişimi de inceledik. Sıçanlarda PARP-1 proteini ekspresyonunu hem varikozel hem de varikozektomi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulduk. Ayrıca, varikozektomi grubunda PARP-1 proteini ekspersyonu varikozel grubuna göre de anlamlı derecede yüksekti.

İnsan olgularında ise sıçan grubuna benzer şekilde varikozel ve varikozektomi gruplarında PARP-1 proteini ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Ancak sıçan grubundan farklı olarak varikozel ve varikozektomi grupları arasında PARP-1 proteini ekspresyonu değerleri arasında anlamlı farklılık gözlemedik.

Bu sonuçlar bize varikozelde apoptoz yolağının indüklenmesine bağılı olarak ortaya çıkan DNA fragmentasyonunu tamir etmek amacıyla PARP-1 proteini ekspresyonunun arttığını göstermektedir. Ancak insanlarda varikozektomi sonrasında bu proteinin ekspresyonunun değişmediği bulgusu diğer bulgularımızı destekler niteliktedir ve varikozektominin olumsuz etkiyi ortadan kaldırmaya yönelik herhangi bir etkisinin olmadığı yönündeki gözlemimizi desteklemektedir.

Sıçanlarda varikoselektomi sonrası PARP-1 ekspresyonunun artması ise apoptoz mekanizmalarında ve DNA dayanıklılığında türler arasındaki oluşabilen farklılıktan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca hem klinik hem de subklinik varikozel gruplarında PARP-1 proteininin ekspresyonu kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. Ancak bu iki varikozel grubu arasında anlamlı farklılık gözlenmedi. Bu durum venlerdeki genişleme miktarından bağımsız olarak tek başına varikozelin varlığının PARP-1 proteininin ekspresyonunu ve apoptozu tetiklediğini, subklinik (ven çapı<3 mm) ve klinik (ven çapı>3 mm) varikozel hastalarında benzer patolojik süreçlerin yaşandığını düşündürmektedir.

ERK 1/2 proteini:

Mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) kaskadının erkek üreme sisteminde spermatogenez, sperm olgunlaşması ve aktivasyonu, kapasitasyon ve akrozom reaksiyonu gibi pek çok olayda düzenleyici bir rolü vardır. MAPK kaskadı apoptoz yolları ile de ilişkilendirilmiştir. Stresin MAPK yolu aracılığı ile germ hücre apoptozunu düzenlediği bilinmektedir. Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, MAPK yolunun aşırı aktivasyonunun spermatogenezi ve germ hücrelerinin veya Sertoli'nin diğer işlevlerini bozulmasına neden olabileceğini göstermiştir. Bu ailenin bir üyesi olan p38-MAPK'ın ROS artışı ile indüklendiğinde testiküler apoptoza katılarak spermatogenezi etkilediği gösterilmiştir (219).

Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar (ERK), MAPK mitogen-activated protein kinase (MAPK) ailesinin bir üyesidir. ERK 1/2 kaskadı hücre çoğalması, farklılaşması, tutunması, göçü ve hayatta kalması gibi süreçlerde çok önemli bir rol oynayan hücre içi temel sinyal yollarından biridir. ERK 1 proteininin farelerde spermatogonia hücre döngüsünün ilerlemesinde pozitif olarak yer aldığı gösterilmiştir. ERK 1/2 kaskadı mayotik bölünmeler sırasında DNA yoğunlaşmasının düzenlenmesine katılır ve aynı zamanda belirli RNA hedeflerinin düzenlenmesine dahil olur (220).

Luconi ve ark., insan semen örneklerinde postakrozomal bölgede ERK 1/2 proteini ekspresyonu tespit etmiş, akrozomal indüksiyon sırasında sperm başının post-akrozomal bölgeden ekrotoryal bölgeye yer değiştirdiği gözlemiştir (221). Bir

başka çalışmada ERK 1/2 proteininin akrozomal ve aksesuar sistoskeletal proteinlerin fosforilasyonuna eşlik ederek, flagellar motiliteyi düzenleyebileceği öne sürülmüştür. Oksidatif strese neden olan kadmiyum klorürün hücre dışı ERK 1/2 aktivasyonu ile apoptozu tetikleyerek mitokondri hasarına neden olduğu gösterilmiştir (222).

Çalışmamızda varikozel grubundaki sıçanlarda ERK 1/2 proteini ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Aynı yükseklik varikoselektomi sonrasında da belirlenmesine rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. İnsanlarda ise ERK 1/2 proteini ekspresyonunda tüm olgular arasında herhangi bir farklılık saptanmadı.

Bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, insanda varikozelin ERK 1/2 yolağında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı, sıçanda ise arttığı sonucuna ulaşılmıştır. İnsan ve sıçan arasındaki bu farklılığın türler arasındaki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ayrıca ERK 1/2 yolağının dolaylı olarak PARP-1 ekspresyonundan etkilediği bilindiği için, sıçanlarda ortaya çıkan yüksek ERK ekspresyonunun varikoselektomi sonrası PARP-1 yüksekliğini de açıklamaktadır (223). Literatür taramasında PARP ve ERK 1/2 proteini ekspresyonlarının varikozelin şiddeti ile ilişkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızın, varikozel hastalarını ultrason değerlendirmesinde ölçülen maksimum genişleyen ven çapı değerlerine göre klinik ve subklinik olarak gruplandırarak her iki proteinin ekspresyonunu ortaya koyması açısından bir ilk olduğunu düşünüyoruz.

Varikozelin, ven çapındaki genişlemeden bağımsız olarak testis yapısında hasara neden olduğu, semen parametrelerini olumsuz etkilediği gözlemlenmiştir. Varikozel hastalarında PARP proteinin ekspresyonunun artması varikozelin olumsuz etkilerinin apoptoz yoluyla ortaya çıktığını düşündürmektedir. Bu çalışmanın bir diğer sonucu da varikozel tedavisinde kullanılan varikoselektomi operasyonunun ortaya çıkan patofizyolojik etkileri düzeltmede yetersiz kaldığıdır.

Ancak çalışmanın bazı limitasyonları mevcuttur. Bu çalışmanın kısıtlılıklarında biri, varikoselektomi grubundaki hastaların ameliyat öncesi klinik muayene ve ultrasonografi bilgilerine ulaşılamamış olumasıdır. Ayrıca, varikoselektomi sonrası semen parametrelerindeki düzelmenin en fazla ilk üç ay içerisinde olduğu bilindiği

için semen parametreleri bir kez değerlendirilmiştir (224). Ancak bu sayının 3 olması gerektiğini iddia eden çalışmalar bulunmaktadır. Benzer şekilde varikosel hastalarının klinik muayene derecelendirme bilgileri, varikoselin süresi, reflü akım miktarı gibi parametreler bu çalışmada incelenmemiştir. Varikoselin şiddetine dair bu parametrelerin de incelendiği, örneklem sayısının daha yüksek olduğu klinik araştırmalar ile varikosel ve varikosektomi'nin etkilerinin ortaya konması gerektiğini düşünmekteyiz.



8. SONUÇ

Varikosel hastalarında internal spermatic venlerde 3 mm üzerindeki dilatasyonlar varikoselin klinik değerlendirmesi için eşik değer olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızda ilk defa bu anatomik parametrenin infertiliteye etkisi araştırıldı. Varikoselin ven çapındaki genişlemenin düzeyinden bağımsız olarak testis yapısında hasara neden olduğu ve semen parametrelerini olumsuz etkilediğini gözledik. Varikosel modeli oluşturulan sıçanlardan elde edilen sonuçlar da bu bulguları desteklerken, varikoselin testis boyutları ve morfolojisinde belirgin hasara neden olduğunu gösterildi. Ayrıca, varikoselin DNA ve kromatin hasarına neden olduğu, özellikle ven çapındaki artışın kromatin hasarını etkileyebileceği gösterildi. Önceki araştırmalarda testis dokusu içerisindeki germ hücrelerinde PARP-1 ve ERK 1/2 proteinlerinin ekspresyonları gösterilmiş olmasına rağmen, çalışmamızda hem insan hemde sıçanda ejakülat ile atılan sperm hücrelerinde PARP-1 ve ERK 1/2 proteinlerinin ekspresyonları ilk kez gösterildi. PARP-1 ve ERK 1/2 apoptoz ile ilgili hücre içi sinyal yolları olup, varikosel hastalarında oksidatif stres artışına rastlanmamasına rağmen, PARP-1 proteinin ekspresyonunun arttığını saptadık. Bu durum, varikoselin fertilitateye olumsuz etkilerinin apoptoz yoluyla ortaya çıkıyor olabileceğini düşündürmektedir. Varikosektomi operasyonu sonrasında hem insan hem de sıçan grubunda değerlendirilen parametrelerde düzelme gözlenmemiş olması bu operasyonun varikosel hastalarında infertiliteyi tedavi etmedeki başarısının yetersiz olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmadaki bulguların klinisyenlere teşhis ve tedavi yaklaşımı bakımından katkıda bulunabileceğini düşünmekteyiz.

9. KAYNAKLAR

1. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Mouzon J de, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. *Fertility and Sterility*. 92(5): 1520–1524, 2009.
2. Saypol DC. Varicocele. *Journal of Andrology*. 2(2): 61–71, 1981.
3. Redmon JB, Carey P, Pryor JL. Varicocele-the most common cause of male factor infertility? *Human Reproduction Update*. 8(1): 53–58, 2002.
4. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi..* 5th ed. Ankara: Gunes Tıp Kitapevleri; 2014.
5. Parekh N, Sabanegh E. Anatomic theories of varicocele origin, *Anatomic Theories of Varicocele*. In: *Varicocele and Male Infertility*. Cham: Springer International Publishing; p. 17–262019.
6. Said S, Aribarg A, Virutamsen P, Chutivongsc S, Koetsawang S, Meherjee P, et al. The influence of varicocele on parameters of fertility in a large group of men presenting to infertility clinics. *Fertl Steril*. 57(6): 1289–1293, 1992.
7. Agarwal A, Deepinder F, Sabanegh Jr ES. Male infertility. *Evidence-Based Urology*. : 146, 2010.
8. Kadioğlu A, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman Ö, Çayan S, et al. *Varikosel kılavuzu*. 1992.
9. Chiou RK, Anderson JC, Wobig RK, Rosinsky DE, Matamoros A, Chen WS, et al. Color Doppler Ultrasound Criteria To Diagnose Varicoceles : Correlation Of A New Scoring System With Physical Examination. *Urology*. 50(6): 953–956, 1997.
10. Rifkin MD, Foy PM, Kurtz AB, Pasto ME, Goldberg BB. The role of diagnostic ultrasonography in varicocele evaluation. *Journal of Ultrasound in Medicine*. 2(6): 271–275, 1983.

11. Bagheri SM, Khajehasani F, Iraj H, Fatemi I. A Novel Method for Investigating the Role of Reflux Pattern in Color Doppler Ultrasound for Grading of Varicocele. *Scientific Reports*. 8(1): 1–9, 2018.
12. Cho KS, Seo JT. Effect of varicocelectomy on male infertility. *Korean Journal of Urology*. 55(11): 703–709, 2014.
13. Homonnai ZT, Fainman N, Engelhard Y, Rudberg Z, David MP, Paz G. Varicocelectomy and Male Fertility: Comparison of Semen Quality and Recurrence of Varicocele Following Varicocelectomy by Two Techniques: Varicocelectomy and Male Fertility. *International Journal of Andrology*. 3(1–6): 447–458, 1980.
14. Locke JA, Noparast M, Afshar K. Treatment of varicocele in children and adolescents: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Pediatric Urology*. 13(5): 437–445, 2017.
15. Tadros NN, Sabanegh Jr E. Varicocele. In: *Oxidants, Antioxidants and Impact of the Oxidative Status in Male Reproduction*. Elsevier; p. 105–115 2019.
16. Pastuszak AW, Wang R. Varicocele and testicular function. *Asian Journal of Andrology*. 17(4): 659–667, 2015.
17. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility—a clinical perspective. *Human reproduction update*. 14(3): 243–258, 2008.
18. Bui AD, Sharma R, Henkel R, Agarwal A. Reactive oxygen species impact on sperm DNA and its role in male infertility. *Andrologia*. 50(8): e13012, 2018.
19. Kadioglu TC, Aliyev E, Celtik M. Microscopic varicocelectomy significantly decreases the sperm DNA fragmentation index in patients with infertility. *BioMed research international*. 2014.
20. Abdelbaki SA, Sabry JH, Al-Adl AM, Sabry HH. The impact of coexisting sperm DNA fragmentation and seminal oxidative stress on the outcome of varicocelectomy in infertile patients: A prospective controlled study. *Arab journal of urology*. 15(2): 131–139, 2017.

21. Tavalae M, Bahreinian M, Barekat F, Abbasi H, Nasr-Esfahani MH. Effect of varicocelectomy on sperm functional characteristics and DNA methylation. *Andrologia*. 47(8): 904–909, 2015.
22. Khosravanian N, Razi M, Farokhi F, Khosravanian H. Testosterone and vitamin E administration up-regulated varicocele-reduced Hsp70-2 protein expression and ameliorated biochemical alterations. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 31(3): 341–354, 2014.
23. Wang Y, Chen F, Liang M, Chen S, Zhu Y, Zou Z, et al. Grape seed proanthocyanidin extract attenuates varicocele-induced testicular oxidative injury in rats by activating the Nrf2-antioxidant system. *Molecular medicine reports*. 17(1): 1799–1806, 2018.
24. Lima SB, Ph D, Cenedeze A, Ph D. Expression of the HSPA2 gene in ejaculated spermatozoa from adolescents with and without varicocele. 86(6): 1659–1663, 2006.
25. Barqawi A, Caruso A, Meacham RB. Experimental varicocele induces testicular germ cell apoptosis in the rat. *The Journal of urology*. 171(1): 501–503, 2004.
26. Simsek A, Ozbek E, Ilbey YO, Cekmen M, Somay A, Tasci AI. Potential role of p38-mitogene-activated protein kinase and nuclear factor-kappa B expression in testicular dysfunction associated with varicocele: an experimental study. *Andrologia*. 44 Suppl 1: 94–101, 2012.
27. Mebratu Y, Tesfaigzi Y. How ERK1/2 activation controls cell proliferation and cell death: Is subcellular localization the answer? *Cell cycle*. 8(8): 1168–1175, 2009.
28. Bernstein C, Bernstein H, Payne CM, Garewal H. DNA repair/pro-apoptotic dual-role proteins in five major DNA repair pathways: fail-safe protection against carcinogenesis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 511(2): 145–178, 2002.

29. Tekcan M, Koksall IT, Tasatargil A, Kutlu O, Gungor E, Celik-Ozenci C. Potential role of Poly (ADP-Ribose) Polymerase Activation in the pathogenesis of experimental left varicocele. *Journal of andrology*. 33(1): 122–132, 2012.
30. Shiraishi K, Takihara H, Matsuyama H. Elevated scrotal temperature, but not varicocele grade, reflects testicular oxidative stress-mediated apoptosis. *World journal of urology*. 28(3): 359–364, 2010.
31. El-Domyati MM, Al-Din A-BM, Barakat MT, El-Fakahany HM, Honig S, Xu J, et al. The expression and distribution of deoxyribonucleic acid repair and apoptosis markers in testicular germ cells of infertile varicocele patients resembles that of old fertile men. *Fertility and sterility*. 93(3): 795–801, 2010.
32. *Anatomy and Physiology*. BC Open Textbook collection. <https://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/chapter/27-1-anatomy-and-physiology-of-the-male-reproductive-system/>
33. Bhimji SS, Leslie SW. *Anatomy, Abdomen and Pelvis, Testicle*. StatPearls. StatPearls Publishing; 2018. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29261881>
34. Ross MH, Wojciech P. *Histoloji Konu Anlatimi ve Atlas*.. 6th ed. Ankara: Palme Yayınevi; 2014.
35. Sullivan R, Mieusset R. The human epididymis: Its function in sperm maturation. *Human Reproduction Update*. 22(5): 574–587, 2016.
36. Sullivan R, Légaré C, Lamontagne-Proulx J, Breton S, Soulet D. *Revisiting structure/functions of the human epididymis*. *Andrology*. p. 748–757 2019.
37. Bedford JM. *Sperm dynamics in the epididymis*. *Gamete physiology*. p. 53–67. https://scholar.google.com.tr/scholar?hl=tr&as_sdt=0%2C5&q=Bedford+J.+Sperm+dynamics+in+the+epididymis.+In%3A+Asch+R%2C+Balmaceda+JP%2C+Johnson+I.+%28ed%29.+Gamete+physiology+Serono+symposium.+Norwell%2C+MA%2C+USA%2C+1990%2C+53&btnG=
38. Koslov DS, Andersson KE. Physiological and pharmacological aspects of the vas deferens-an update. *Frontiers in Pharmacology*. 4 AUG(August): 1–11,

2013.

39. Gonzales GF. Function of seminal vesicles and their role on male fertility. *Asian Journal of Andrology*. 3(4): 251–258, 2001. <https://scihub.do/http://www.asiaandro.com/archive/1008-682X/3/251.htm>
40. Ittmann M. Anatomy and histology of the human and murine prostate. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 8(5): 1–7, 2018.
41. Fretz PC, Sandlow JI. Varicocele: Current concepts in pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Urologic Clinics of North America*. 29(4): 921–937, 2002.
42. Artyukhin AA. Anatomy and microanatomy of the venous system of scrotal organs and spermatic cord. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 143(1): 99–104, 2007.
43. Moore Keith L, Persaud T. *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. Nobel Tıp Kitapevi. 2009.
44. Schoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR, Francis-West PH. *Larsen's human embryology*. 5th ed. Elsevier; 2020.
45. Gülfidan Ö, Hülya P, Sait P. Kapasitasyonun Moleküler Temelleri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*. 1: 12–24, 2010.
46. WHO. *WHO Laboratuvar El Kitabı İnsan semeninin incelenmesi ve işlemlerden geçirilmesi*. İstanbul: Türk Üroloji Derneği; 2010. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44261/35/9789750011245_tur.pdf
47. Dohle GR, Colpi GM, Hargreave TB, Papp GK, Jungwirth A, Weidner W. EAU guidelines on male infertility. *European Urology*. 48(5): 703–711, 2005.
48. Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB, Mahmoud AMA. *WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile male*. Cambridge university press; 2000.
49. Marte A. The history of varicocele: From antiquity to the modern ERA.

- International Braz J Urol. 44(3): 563–576, 2018.
50. Verit A, Aksoy S, Kafali H, Verit FF. Urologic techniques of Serefeddin Sabuncuoglu in the 15th century Ottoman period. *Urology*. 62(4): 776–778, 2003.
 51. Besiroglu H, Otunctemur A, Dursun M, Ozbek E. The prevalence and severity of varicocele in adult population over the age of forty years old: a cross-sectional study. *Aging Male*. 22(3): 207–213, 2019.
 52. Cimador M, Castagnetti M, Gattuccio I, Pensabene M, Sergio M, De Grazia E. The hemodynamic approach to evaluating adolescent varicocele. *Nature Reviews Urology*. 9(5): 247–257, 2012.
 53. Gat Y, Bachar GN, Zukerman Z, Belenky A, Gornish M. Varicocele: a bilateral disease. *Fertility and sterility*. 81(2): 424–429, 2004.
 54. Cho C-L, Esteves SC, Agarwal A. Indications and outcomes of varicocele repair. *Panminerva medica*. 61(2): 152–163, 2019.
 55. Pfeifer S, Butts S, Catherino W, Davis O, Dumesic D, Fossum G, et al. Report on varicocele and infertility: A committee opinion. *Fertility and Sterility*. 102(6): 1556–1560, 2014.
 56. Fiogbe MA, Alao MJ, Biau O, Gbenou SA, Yekpe P, Sossou R, et al. Ultrasound diagnosis of varicocele in the adolescent: Our experience from Benin. *African Journal of Paediatric Surgery*. 10(4): 295–298, 2013.
 57. Macey MR, Owen RC, Ross SS, Coward RM. Best practice in the diagnosis and treatment of varicocele in children and adolescents. *Therapeutic Advances in Urology*. 10(9): 273–282, 2018.
 58. Wilms G, Oyen R, Casselman J, Steeno O, Baert AL. Solitary or Predominantly Right-Sided Varicocele: A Possible Sign of Situs Inversus. *Urologic Radiology*. 9: 243–246, 1988.
 59. Grillo-López AJ. Primary right varicocele. *The Journal of urology*. 105(4): 540–

541, 1971.

60. Bonfitto M, Kimura LSM, Godoy JMP, Filho MZ, Spessoto LCF, Junior FNF. Does right-sided varicocele indicate a right-sided kidney tumor? *Archivio Italiano di Urologia e Andrologia*. 91(1): 53–54, 2019.
61. Shinsaka H, Fujimoto N, Matsumoto T. A rare case of right varicocele testis caused by a renal cell carcinoma thrombus in the spermatic vein. *International Journal of Urology*. 13(6): 844–845, 2006.
62. Ates N, Yüksel M, Yilmaz S, Habibi M, Ipekci T. Retroperitoneal paraganglioma presenting as right-sided varicocele: Case report. *Annals of Saudi Medicine*. 36(2): 148–151, 2016.
63. Gleason A, Bishop K, Xi Y, Fetzer DT. Isolated right-sided varicocele: Is further workup necessary? *American Journal of Roentgenology*. 212(4): 802–807, 2019.
64. Glezerman M, Rakowszczyk M, Lunenfeld B. Varicocele in oligospermic patients. Pathophysiology and results after ligation and division of the internal spermatic vein. *Journal of Urology*. 115(5): 562–565, 1976.
65. Wishahí MM. Detailed anatomy of the internal spermatic vein and the ovarioan vein. Human cadaver study and operative spermatic venography: clinical aspects. *The Journal of urology*. 145: 780–784, 1991.
66. Coolsaet BLRA. The varicocele syndrome: Venography determining the optimal level for surgical management. *Journal of Urology*. 124(6): 833–838, 1980.
67. Zavattaro M, Ceruti C, Motta G, Allasia S, Marinelli L, Di Bisceglie C, et al. Treating varicocele in 2018: current knowledge and treatment options. *Journal of Endocrinological Investigation*. 41(12): 1365–1375, 2018.
68. MIEUSSET R, BUJAN L. Testicular heating and its possible contributions to male infertility: a review. *International Journal of Andrology*. 18(4): 169–184, 1995.

69. Dahl E V, Herrick JF. A vascular mechanism for maintaining testicular temperature by counter-current exchange. *Surgery, gynecology & obstetrics*. 108(6): 697, 1959.
70. Garolla A, Torino M, Miola P, Caretta N, Pizzol D, Menegazzo M, et al. Twenty-four-hour monitoring of scrotal temperature in obese men and men with a varicocele as a mirror of spermatogenic function. *Human Reproduction*. 30(5): 1006–1013, 2015.
71. Afiyani AA, Deemeh MR, Tavalae M, Razi M, Bahadorani M, Shokrollahi B, et al. Evaluation of Heat-Shock Protein A2 (HSPA2) in male rats before and after varicocele induction. *Molecular Reproduction and Development*. 81(8): 766–776, 2014.
72. Ogi S, Tanji N, Iseda T, Yokoyama M. Expression of heat shock proteins in developing and degenerating rat testes. *Archives of Andrology*. 43(3): 163–171, 1999.
73. Widlak W, Vydra N. The Role of Heat Shock Factors in Mammalian Spermatogenesis. In: *Advances in anatomy, embryology, and cell biology*. p. 45–65 2017.
74. Dix DJ, Allen JW, Collins BW, Mori C, Nakamura N, Poorman-Allen P, et al. Targeted gene disruption of Hsp70-2 results in failed meiosis, germ cell apoptosis, and male infertility. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 93(8): 3264–3268, 1996.
75. Poli G, Leonarduzzi G, Biasi F, Chiarpotto E. Oxidative Stress and Cell Signalling. *Current Medicinal Chemistry*. 11(9): 1163–1182, 2012.
76. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017 2017.
77. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 25(3): 287–299, 2011.

78. Karalar M, Amlı MŞ, Tüzel E, Köken T, Demirbaş M. Evaluation of oxidative stress in the spermatic and peripheral veins of patients with varicocele. *Andrologia*. 33(1): 40–44, 2007.
79. Pasqualotto FF, Sharma RK, Nelson DR, Thomas Jr AJ, Agarwal A. Relationship between oxidative stress, semen characteristics, and clinical diagnosis in men undergoing infertility investigation. *Fertility and sterility*. 73(3): 459–464, 2000.
80. Barati E, Nikzad H, Karimian M. Oxidative stress and male infertility: current knowledge of pathophysiology and role of antioxidant therapy in disease management. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 77: 93–113, 2019.
81. Griveau JF, Le Lannou D. Reactive oxygen species and human spermatozoa: Physiology and pathology. *International Journal of Andrology*. 20(2): 61–69, 1997.
82. Romeo C, Santoro G. Free radicals in adolescent varicocele testis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014 2014.
83. Iwasaki A, Gagnon C. Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. *Fertility and sterility*. 57(2): 409–416, 1992.
84. Tiseo BC, Esteves SC, Cocuzza MS. Summary evidence on the effects of varicocele treatment to improve natural fertility in subfertile men. *Asian Journal of Andrology*. 18(2): 239–245, 2016.
85. Wolffe A. *Chromatin: structure and function*. Academic press; 1998.
86. Smerdon MJ. DNA repair and the role of chromatin structure. *Current opinion in cell biology*. 3(3): 422–428, 1991.
87. Lüleyap HÜ. *Moleküler genetiğin esasları*. Akedemisyen Kitabevi; 2008.
88. Agarwal A, Majzoub A, Baskaran S, Selvam MKP, Cho CL, Henkel R, et al. Sperm DNA fragmentation: A new guideline for clinicians. *World Journal of Men's Health*. 38(4): 412–471, 2020.

89. Zini A, Bielecki R, Phang D, Zenzes MT. Correlations between two markers of sperm DNA integrity, DNA denaturation and DNA fragmentation, in fertile and infertile men. *Fertility and Sterility*. 75(4): 674–677, 2001.
90. Zini A, Dohle G. Are varicoceles associated with increased deoxyribonucleic acid fragmentation? *Fertility and Sterility*. 96(6): 1283–1287, 2011.
91. Cho CL, Agarwal A. Role of sperm DNA fragmentation in male factor infertility: A systematic review. *Arab Journal of Urology*. 16(1): 21–34, 2018.
92. Shaha C, Tripathi R, Prasad Mishra D. Male germ cell apoptosis: Regulation and biology. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 365(1546): 1501–1515, 2010.
93. Nishimoto S, Nishida E. MAPK signalling: erk5 versus ERK1/2. *EMBO reports*. 7(8): 782–786, 2006.
94. Robinson MJ, Cobb MH. Mitogen-activated protein kinase pathways. *Current opinion in cell biology*. 9(2): 180–186, 1997.
95. Ozmen B, Koutlaki N, Youssry M, Diedrich K, Al-Hasani S. DNA damage of human spermatozoa in assisted reproduction: Origins, diagnosis, impacts and safety. *Reproductive BioMedicine Online*. 14(3): 384–395, 2007.
96. Sinha Hikim AP, Lue Y, Yamamoto CM, Vera Y, Rodriguez S, Yen PH, et al. Key apoptotic pathways for heat-induced programmed germ cell death in the testis. *Endocrinology*. 144(7): 3167–3175, 2003.
97. Vera Y, Diaz-Romero M, Rodriguez S, Lue Y, Wang C, Swerdloff RS, et al. Mitochondria-Dependent Pathway Is Involved in Heat-Induced Male Germ Cell Death: Lessons from Mutant Mice¹. *Biology of Reproduction*. 70(5): 1534–1540, 2004.
98. Vera Y, Erkkilä K, Wang C, Nunez C, Kyttänen S, Lue Y, et al. Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase and inducible nitric oxide synthase in apoptotic signaling of murine and human male germ cells after hormone deprivation. *Molecular Endocrinology*. 20(7): 1597–1609, 2006.

99. Jia Y, Castellanos J, Wang C, Sinha-Hikim I, Lue Y, Swerdloff RS, et al. Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling in Male Germ Cell Apoptosis in the Rat. *Biology of Reproduction*. 80(4): 771–780, 2009.
100. Şimsek F, Türkeri L, Cevik I, Bircan K, Akdaş A. Role of apoptosis in testicular tissue damage caused by varicocele. *Archivos espanoles de urologia*. 51(9): 947, 1998.
101. Chang F-W, Sun G-H, Cheng Y-Y, Chen I-C, Chien H-H, Wu G-J. Effects of varicocele upon the expression of apoptosis-related proteins. *Andrologia*. 42(4): 225–230, 2010.
102. Durairajanayagam D, Agarwal A, Ong C. Causes, effects and molecular mechanisms of testicular heat stress. *Reproductive BioMedicine Online*. 30(1): 14–27, 2015.
103. Bayard F, Boulard PY, Huc A, Pontonnier F. Arterio-venous transfer of testosterone in the spermatic cord of man. *J Clin Endocrinol Metab*. 40(2): 345, 1975.
104. Jensen CFS, Østergren P, Dupree JM, Ohl DA, Sønksen J, Fode M. Varicocele and male infertility. *Nature reviews. Urology*. 14(9): 523–533, 2017.
105. Kısa Ü, Başar MM, Ferhat M, Yılmaz E, Başar H, Çağlayan O, et al. Testicular tissue nitric oxide and thiobarbituric acid reactive substance levels: Evaluation with respect to the pathogenesis of varicocele. *Urological Research*. 32(3): 196–199, 2004.
106. Lipshultz LI, Corriere JN. Progressive testicular atrophy in the varicocele patient. *The Journal of Urology*. 117(2): 175–176, 1977.
107. Guzel O, Aslan Y, Balci M, Tuncel A, Unal B, Atan A. Significant worsening sperm parameters are associated to testicular hypotrophy in patients with a high grade varicocele. *Actas Urológicas Españolas (English Edition)*. 39(6): 392–395, 2015.
108. Diegidio P, Jhaveri JK, Ghannam S, Pinkhasov R, Shabsigh R, Fisch H. Review

- of current varicocelectomy techniques and their outcomes. *BJU International*. 108(7): 1157–1172, 2011.
109. Cho CL, Esteves SC, Agarwal A. Indications and outcomes of varicocele repair. *Panminerva Medica*. 61(2): 152–163, 2019.
 110. Huber A, Bai P, Murcia JM De, Murcia G De. PARP-1, PARP-2 and ATM in the DNA damage response: Functional synergy in mouse development. *DNA Repair*. 3(8–9): 1103–1108, 2004.
 111. Meglio S Di, Tramontano F, Cimmino G, Jones R, Quesada P. Dual role for poly(ADP-ribose)polymerase-1 and -2 and poly(ADP-ribose) glycohydrolase as DNA-repair and pro-apoptotic factors in rat germinal cells exposed to nitric oxide donors. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*. 1692(1): 35–44, 2004.
 112. Gungor-Ordueri NE, Kuscü N, Tasatargil A, Burgucu D, Karacan M, Celik-Ozenci C. Doxorubicin-induced testicular damage is related to PARP-1 signaling molecules in mice. *Pharmacological Reports*. 71(4): 591–602, 2019.
 113. D'Amours D, Sallmann FR, Dixit VM, Poirier GG. Gain-of-function of poly(ADP-ribose) polymerase-1 upon cleavage by apoptotic proteases: implications for apoptosis. *Journal of cell science*. 114(20): 3771–3778, 2001.
 114. Meyer-Ficca ML, Scherthan H, Bürkle A, Meyer RG. Poly(ADP-ribosylation) during chromatin remodeling steps in rat spermiogenesis. *Chromosoma*. 114(1): 67–74, 2005.
 115. Wu H, Gao J, Wang X, Leung TY, Duan YG, Chiu PCN. Platelet-activating factor induces acrosome reaction via the activation of extracellular signal-regulated kinase in human spermatozoa. *Andrologia*. 52(5): 1–7, 2020.
 116. Kolch W. Meaningful relationships: The regulation of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway by protein interactions. *Biochemical Journal*. 351(2): 289–305, 2000.
 117. Buscà R, Pouyssegur J, Lenormand P. ERK1 and ERK2 map kinases: Specific roles or functional redundancy? *Frontiers in Cell and Developmental Biology*.

4: 1–23, 2016.

118. De Lamirande E, Gagnon C. The extracellular signal-regulated kinase (ERK) pathway is involved in human sperm function and modulated by the superoxide anion. *Molecular Human Reproduction*. 8(2): 124–135, 2002.
119. Meng C, Tian G, Xu C, Li X, Zhang Y, Wang Y, et al. Hippo kinases MST1 and MST2 control the differentiation of the epididymal initial segment via the MEK-ERK pathway. *Cell Death and Differentiation*. 27(10): 2797–2809, 2020.
120. Kocakoc E, Serhatlioglu S, Kiris A, Bozgeyik Z, Ozdemir H, Bodakci MN. Color doppler sonographic evaluation of inter-relations between diameter, reflux and flow volume of testicular veins in varicocele. *European Journal of Radiology*. 47(3): 251–256, 2003.
121. Salonia A, Bettocchi C, Carvalho J, Corona G, Jones TH, Kadioglu A, et al. Sexual and Reproductive Health EAU Guidelines. : 282, 2021. <https://uroweb.org/guideline/sexual-and-reproductive-health/#10>
122. Saypol DC, Howards SS, Turner TT, Miller ED. Influence of surgically induced varicocele on testicular blood flow, temperature, and histology in adult rats and dogs. *Journal of Clinical Investigation*. 68(1): 39–45, 1981.
123. Öztürk MI, Koca O, Keleş MO, Yilmaz S, Karaman MI. Increased sperm dna damage in experimental rat varicocele model and the beneficial effect of varicolectomy. *International Journal of Fertility and Sterility*. 6(2): 95–100, 2012.
124. Taskinen S, Taavitsainen M, Wikström S. Measurement of testicular volume: Comparison of 3 different methods. *Journal of Urology*. 155(3): 930–933, 1996.
125. Johnsen SG. Testicular Biopsy Score Count- A method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones*. 1(1): 2–25, 1970.
126. Choi H, Kim KMKSMS, Kim KMKSMS. The effect of experimental varicocele on the testis of adolescent rats. *The Journal of urology*. 144(2): 499–501, 1990.

127. Rehman KU, Zaneb H, Qureshi AB, Yousaf MS, Numan A, Majeed KA, et al. Correlation between testicular hemodynamic and semen quality indices in clinical varicocele patients in Pakistan. *BioMed Research International*. 2019 2019.
128. Jarow P. Incidence of varicoceles in men with primary and secondary infertility. *Adult Urology*. 47(1): 73–76, 1996.
129. Gorelick JJ, Goldstein M. Loss of fertility in men with varicocele. *Fertility and sterility*. 59(3): 613–616, 1993.
130. Hauser R, Paz G, Botchan A, Yogev L, Yavetz H. Varicocele and male infertility : Part II Varicocele : effect on sperm functions. *Human Reproduction Up*. 7(5): 1992–1995, 2001.
131. Gill K, Kups M, Harasny P, Machalowski T, Grabowska M. The Negative Impact of Varicocele on Basic Semen Parameters , Sperm Nuclear DNA Dispersion and Oxidation-Reduction Potential in Semen. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 18: 1–16, 2021.
132. Blumer CG, Fariello RM, Restelli AE, Spaine DM, Bertolla RP, Ph D, et al. Sperm nuclear DNA fragmentation and mitochondrial activity in men with varicocele. *Fertility and Sterility*. 90(5): 1716–1722, 2008.
133. Damsgaard J, Joensen UN, Carlsen E, Erenpreiss J, Blomberg Jensen M, Matulevicius V, et al. Varicocele Is Associated with Impaired Semen Quality and Reproductive Hormone Levels: A Study of 7035 Healthy Young Men from Six European Countries. *European Urology*. 70(6): 1019–1029, 2016.
134. Andrade-Rocha FT. Significance of sperm characteristics in the evaluation of adolescents, adults and older men with varicocele. *Journal of postgraduate medicine*. 53(1): 8, 2007.
135. Zini A, Defreitas G, Freeman M, Sc B, Hechter S, Jarvi K. Varicocele is associated with abnormal retention of cytoplasmic droplets by human spermatozoa. *Fertility and Sterility*. 74(3): 461–464, 2000.

136. Agarwal A, Sharma R, Harlev A, Esteves SC. Effect of varicocele on semen characteristics according to the new 2010 World Health Organization criteria : a systematic review and meta - analysis. *Asian Journal of Andrology*. : 163–170, 2016.
137. Pasqualotto F. Semen analysis: Role of age and varicocele. *Journal of postgraduate medicine*. 53(1) 2007.
138. Chehval MJ, Purcell MH. Deterioration of semen parameters over time in men with untreated varicocele: evidence of progressive testicular damage. *Fertility and Sterility*. 57(1): 174–177, 1992.
139. Sigmund G, Gall H, Bahren W. Stop-type and shunt-type varicoceles: venographic findings. <https://doi.org/10.1148/radiology.163.1.3547489>. 163(1): 105–110, 1987.
140. Ghafoori M, Rostampour A. Evaluation of the Relation of Diameter and Reflux to Sperm Analysis in Varicocele Patients in Hashemi Nejad Hospital in the year 2003. *Razi Journal of Medical Sciences*. 13(51): 157–164, 2006. <http://rjms.iums.ac.ir/article-1-602-en.html>
141. Pilatz A, Altinkilic B, Köhler E, Marconi M, Weidner W. Color Doppler ultrasound imaging in varicoceles: Is the venous diameter sufficient for predicting clinical and subclinical varicocele? *World Journal of Urology*. 29(5): 645–650, 2011.
142. Jarow JP, Ogle SR, Eskew LA. Seminal improvement following repair of ultrasound detected subclinical varicoceles. *The Journal of urology*. 155(4): 1287–1290, 1996.
143. Keoghane SR, Kabala JE. Varicocele embolisation. *Imaging*. 13(1): 11–17, 2001.
144. Hoekstra T, Witt MA. The Correlation of Internal Spermatic Vein Palpability With Ultrasonographic Diameter and Reversal of Venous Flow. *The Journal of Urology*. 153(1): 82–84, 1995.

145. Honig SC. New diagnostic techniques in the evaluation of anatomic abnormalities of the infertile male. *Urologic Clinics of North America*. 21(3): 417–432, 1994.
146. Mahdavi A, Heidari R, Khezri M, Shiravi A, Pirjani R, Kashaf RS, et al. Can ultrasound findings be a good predictor of sperm parameters in patients with varicocele? A cross-sectional study. *Nephro-Urology Monthly*. 8(5): 4–7, 2016.
147. Babaei Jandaghi A, Moradi H, Hamidi Madani A, Nasseh H, Keshavarz Zirak A, Pourghorban R, et al. Real-time scrotal ultrasound of patients with varicoceles: correlation with impaired semen analysis. *European radiology*. 24(9): 2245–2251, 2014.
148. Krause W, Müller HH, Schäfer H, Weidner W. Does treatment of varicocele improve male fertility? Results of the ‘Deutsche Varikozelenstudie’, a multicentre study of 14 collaborating centres. *Andrologia*. 34(3): 164–171, 2002.
149. Tulloch WS. Varicocele in subfertility results of treatment. *British Medical Journal*. 2(4935): 356–358, 1955.
150. Kantartzi PD, Goulis CD, Goulis GD, Papadimas I. Male infertility and varicocele: Myths and reality. *Hippokratia*. 11(3): 99–104, 2007.
151. Yazdani M, Hadi M, Abbasi H, Nourimahdavi K, Khalighinejad P, Mirsattari A, et al. Efficacy of Varicocele Repair in Different Age Groups. *Urology*. 86(2): 273–275, 2015.
152. Abdel-Meguid TA, Al-Sayyad A, Tayib A, Farsi HM. Does varicocele repair improve male infertility? An evidence-based perspective from a randomized, controlled trial. *European Urology*. 59(3): 455–461, 2011.
153. Chhabra T, Dalal S, Prakash S, Nara N, Bhatia C, Beniwal JP. Effect of varicocelectomy on seminogram in patients with clinical varicocele. *International Surgery Journal*. 5(5): 1831, 2018.
154. Breznik R, Vlasisavuevic V, Borko E. Treatment of varicocele and Male fertility.

Systems Biology in Reproductive Medicine. 30(3): 157–160, 1993.

155. Grasso M, Lania C, Castelli M, Galli L, Franzoso F, Rigatti P. Low-grade left varicocele in patients over 30 years old: the effect of spermatic vein ligation on fertility. *BJU international*. 85(3): 305–307, 2000.
156. Nilsson S, Edvinsson A, Nilsson B. Improvement of semen and pregnancy rate after ligation and division of the internal spermatic vein: fact or fiction? *British journal of urology*. 51(6): 591–596, 1979.
157. Addar A, Nazer A, Almardawi A, Al Hathal N, Kattan S. The yield of microscopic varicocelectomy in men with severe oligospermia. *Urology Annals*. 13(3): 268–271, 2021.
158. Enatsu N, Yamaguchi K, Chiba K, Miyake H, Fujisawa M. Clinical outcome of microsurgical varicocelectomy in infertile men with severe oligozoospermia. *Urology*. 83(5): 1071–1074, 2014.
159. Evers JLH, Collins JA. Assessment of efficacy of varicocele repair for male subfertility: A systematic review. *Lancet*. 361(9372): 1849–1852, 2003.
160. Agarwal A, Deepinder F, Cocuzza M, Agarwal R, Short RA, Sabanegh E, et al. Efficacy of Varicocelectomy in Improving Semen Parameters: New Meta-analytical Approach. *Urology*. 70(3): 532–538, 2007.
161. Marmar JL, Agarwal A, Prabakaran S, Agarwal R, Short RA, Benoff S, et al. Reassessing the value of varicocelectomy as a treatment for male subfertility with a new meta-analysis. *Fertility and Sterility*. 88(3): 639–648, 2007.
162. Persad E, O’Loughlin CAA, Kaur S, Wagner G, Matyas N, Hassler-Di Fratta MR N-SB. Surgical or radiological treatment for varicoceles in subfertile men (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews*. (4): Art. No.: CD000479, 2021.
163. Zadeh AA, Arab D, Kia NS, Heshmati S, Amir Khalili SN. The role of Vitamin E – Selenium - Folic Acid Supplementation in Improving Sperm Parameters After Varicocelectomy: A Randomized Clinical Trial. *Urology Journal*. 16(5):

495–500, 2019.

164. Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, Kopa Z, Dohle G, et al. European Association of Urology Guidelines on Male Infertility: The 2012 Update. *European Urology*. 62(2): 324–332, 2012.
165. Sun X lei, Wang J lin, Peng Y peng, Gao Q qiang, Song T, Yu W, et al. Bilateral is superior to unilateral varicocelectomy in infertile males with left clinical and right subclinical varicocele: a prospective randomized controlled study. *International Urology and Nephrology*. 50(2): 205–210, 2018.
166. Pierik FH, Vreeburg JTM, Stijnen T, Van Rooijen JH, Dohle GR, Laméris JS, et al. Improvement of sperm count and motility after ligation of varicoceles detected with colour Doppler ultrasonography. *International Journal of Andrology*. 21(5): 256–260, 1998.
167. Holstein AF, Schulze W, Davidoff M. Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 1: 1–16, 2003.
168. Habibi B, Seifi B, Mougahi SMHN, Ojaghi M, Sadeghipour HR. Increases in interleukin-6 and interferon-gamma levels is progressive in immature rats with varicocele. *Irish Journal of Medical Science*. 184(2): 531–537, 2015.
169. Bedir F, Keskin E, Karabakan M, Karabulut İ, Yılmazel FK, Özbey EG, et al. Evaluation of testicular catch-up growth in adolescent microsurgical varicocelectomy. *Turk Uroloji Dergisi*. 43(2): 135–140, 2017.
170. Diamond DA, Zurakowski D, Bauer SB, Borer JG, Peters CA, Cilento BG, et al. Relationship of varicocele grade and testicular hypotrophy to semen parameters in adolescents. *The Journal of urology*. 178(4S): 1584–1588, 2007.
171. Yamamoto M, Hibi H, Katsuno S, Miyake K. Effects of varicocelectomy on testis volume and semen parameters in adolescents: a randomized prospective study. *Nagoya journal of medical science*. 58: 127–132, 1995.
172. Zhou T, Zhang W, Chen Q, Li L, Cao H, Xu CL, et al. Effect of varicocelectomy

- on testis volume and semen parameters in adolescents: A meta-analysis. *Asian Journal of Andrology*. 17(6): 1012–1016, 2015.
173. Cavallini G, Beretta G, Biagiotti G, Mallus R, Maretti C, Pescatori E, et al. Subsequent impaired fertility (with or without sperm worsening) in men who had fathered children after a left varicocelectomy: A novel population? *Urology Annals*. 7(1): 79–85, 2015.
174. Nieschlag E, Hertle L, Fishedick A, Abshagen K, Behre HM. Update on treatment of varicocele: Counselling as effective as occlusion of the vena spermatica. *Human Reproduction*. 13(8): 2147–2150, 1998.
175. Papanikolaou F, Chow V, Jarvi K, Fong B, HO M, Zini A. Effect of adult microsurgical varicocelectomy on testicular volume. *Adult Urology*. 56(1): 137–139, 2000.
176. Celik O, Kutlu O, Tekcan M, Celik-Ozenci C, Koksal IT. Role of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in the pathogenesis of varicocele-induced testicular dysfunction. *Asian Journal of Andrology*. 15(2): 269–274, 2013.
177. Majd NE, Sadeghi N, Tavalae M, Tabandeh MR, Esfahani MHN-. Evaluation of oxidative stress in testis and sperm of rat folling induced varicocele. *Sexual Dysfunction and Andrology*. 16(3): 300–306, 2019.
178. Karna KK, Choi BR, Kim MJ, Kim HK, Park JK. The effect of Schisandra chinensis baillon on crosstalk between oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and mitochondrial signaling pathway in testes of varicocele-induced SD rat. *International Journal of Molecular Sciences*. 20(22) 2019.
179. Taghizadeh L, Eidi A, Mortazavi P, Rohani AH. Effect of selenium on testicular damage induced by varicocele in adult male Wistar rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 44(June): 177–185, 2017.
180. Hassani-Bafrani H, Najaran H, Razi M, Rashtbari H. Berberine ameliorates experimental varicocele-induced damages at testis and sperm levels; evidences for oxidative stress and inflammation. *Andrologia*. 51(2): 1–14, 2019.

181. Asadi N, Kheradmand A, Gholami M, Saidi SH, Mirhadi SA. Effect of royal jelly on testicular antioxidant enzymes activity, MDA level and spermatogenesis in rat experimental Varicocele model. *Tissue and Cell*. 57(September 2018): 70–77, 2019.
182. Armagan A, Dogan F, Oksay T, Akman T, Darici H, Aylak F, et al. The effect of micronized purified flavonoid fraction on the prevention of testicular pathologies in adolescent rats with experimentally induced varicocele. *Journal of Urology*. 188(5): 2007–2013, 2012.
183. Öztürk Mİ, Koca O, Keleş MO, Haklar G, Baykan Ö, Ercan F, et al. The impact of unilateral experimental rat varicocele model on testicular histopathology, Leydig cell counts and intratesticular testosterone levels of both testes. *Sexual Dysfunction and Infertility*. 10(3): 973–980, 2012.
184. Özgür H, Kaya M, Doran Ş, Solmaz S. Ultrastructure of the seminiferous tubules in human testes before and after varicocelectomy. *Anatomy and Embryology*. 207(4–5): 343–353, 2003.
185. Khosravanian H, Razi M, Farokhi F, Khosravanian N. Simultaneous administration of dexamethasone and vitamin E reversed experimental varicocele-induced impact in testicular tissue in rats; correlation with Hsp70-2 chaperone expression. *International braz j urol*. 41(4): 773–790, 2015.
186. Mostafaei H, Sadeghi-Bazargani H, Hajebrahimi S, Salehi-Pourmehr H, Ghojazadeh M, Onur R, et al. Prevalence of female urinary incontinence in the developing world: A systematic review and meta-analysis—A Report from the Developing World Committee of the International Continence Society and Iranian Research Center for Evidence Based Medicine. *Neurourology and Urodynamics*. 39(4): 1063–1086, 2020.
187. Xia ZP, Zheng XM, Zheng H, Liu XJ, Liu GY, Wang XH. Downregulation of cold-inducible RNA-binding protein activates mitogen-activated protein kinases and impairs spermatogenic function in mouse testes. *Asian Journal of Andrology*. 14(6): 884–889, 2012.

188. Sadek A, Almohamdy ASA, Zaki A, Aref M, Ibrahim SM, Mostafa T. Sperm chromatin condensation in infertile men with varicocele before and after surgical repair. *Fertility and Sterility*. 95(5): 1705–1708, 2011.
189. Aydos OS, Yükselten Y, Kaplan F, Sunguroğlu A, Aydos K. Analysis of the correlation between sperm DNA integrity and conventional semen parameters in infertile men. *Turk Uroloji Dergisi*. 41(4): 191–197, 2015.
190. Smit M, Romijn JC, Wildhagen MF, Veldhoven JLM, Weber RFA, Dohle GR. Decreased Sperm DNA Fragmentation After Surgical Varicocelectomy is Associated With Increased Pregnancy Rate. *Journal of Urology*. 183(1): 270–274, 2010.
191. Zini A, Blumenfeld A, Libman J, Willis J. Beneficial effect of microsurgical varicocelectomy on human sperm DNA integrity. *Human Reproduction*. 20(4): 1018–1021, 2005.
192. Zini A, Azhar R, Baazeem A, Gabriel MS. Effect of microsurgical varicocelectomy on human sperm chromatin and DNA integrity: A prospective trial. *International Journal of Andrology*. 34(1): 14–19, 2011.
193. Alhathal N, San Gabriel M, Zini A. Beneficial effects of microsurgical varicocelectomy on sperm maturation, DNA fragmentation, and nuclear sulfhydryl groups: A prospective trial. *Andrology*. 4(6): 1204–1208, 2016.
194. Li F, Yamaguchi K, Okada K, Matsushita K, Ando M, Chiba K, et al. Significant improvement of sperm DNA quality after microsurgical repair of varicocele. *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 58(5): 274–277, 2012.
195. Lira Neto FT, Roque M, Esteves SC. Effect of varicocelectomy on sperm deoxyribonucleic acid fragmentation rates in infertile men with clinical varicocele: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*. 116(3): 696–712, 2021.
196. Najaran H, Rashtbari H, Mohammadi A, Soleimanifar F, Izadpanah F, Haddad Kashani H, et al. The protective effect of coenzyme Q10 and berberine on sperm

- parameters, with and without varicocelectomy in rats with surgically induced varicoceles. *Comparative Clinical Pathology*. 28(2): 479–485, 2019.
197. Roque M, Esteves SC. Effect of varicocele repair on sperm DNA fragmentation: a review. *International Urology and Nephrology*. 50(4): 583–603, 2018.
 198. Baazeem A, Belzile E, Ciampi A, Dohle G, Jarvi K, Salonia A, et al. Varicocele and male factor infertility treatment: A new meta-analysis and review of the role of varicocele repair. *European Urology*. 60(4): 796–808, 2011.
 199. Tavalae M, Abbasi H, Deemeh MR, Fotohi F, Gilani MAS, Esfahani MHN. Semen parameters and chromatin packaging in microsurgical varicocelectomy patients. *International Journal of Fertility and Sterility*. 6(3): 165–174, 2012.
 200. Razi M, Tavalae M, Moazamian A, Gharagozloo P, Drevet JR. Varicocele and oxidative stress: New perspectives from animal and human studies. (November 2020): 546–558, 2021.
 201. Aitken RJ, Curry BJ. Redox regulation of human sperm function: from the physiological control of sperm capacitation to the etiology of infertility and DNA damage in the germ line. *Antioxidants & redox signaling*. 14(3): 367–381, 2011.
 202. Mostafa T, Anis TH, Ghazi S, El-Nashar AR, Imam H, Osman IA. Reactive oxygen species and antioxidants relationship in the internal spermatic vein blood of infertile men with varicocele. *Asian Journal of Andrology*. 8(4): 451–454, 2006.
 203. Agarwal A, Prabakaran S, Allamaneni SSSR. Relationship between oxidative stress, varicocele and infertility: A meta-analysis. *Reproductive BioMedicine Online*. 12(5): 630–633, 2006.
 204. Dada R, Shamsi MB, Venkatesh S, Gupta NP, Kumar R. Attenuation of oxidative stress & DNA damage in varicocelectomy: Implications in infertility management. *Indian Journal of Medical Research*. 132(12): 728–730, 2010.
 205. Mostafa T, Nabil N, Rashed L, Abo-Sief AF, Eissa HH. Seminal SIRT1-

- oxidative stress relationship in infertile oligoasthenoteratozoospermic men with varicocele after its surgical repair. *Andrologia*. 52(1): 3–7, 2020.
206. Chen CH, Lee S Sen, Chen DC, Chien HH, Chen IC, Chu YN, et al. Apoptosis and Kinematics of Ejaculated Spermatozoa in Patients with Varicocele. *Journal of Andrology*. 25(3): 348–353, 2004.
207. Collodel G, Moretti E, Longini M, Pascarelli NA, Signorini C. Increased F2-isoprostane levels in semen and immunolocalization of the 8-iso prostaglandin F2 α in spermatozoa from infertile patients with varicocele. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018 2018.
208. Collodel G, Castellini C, Iacoponi F, Noto D, Signorini C. Cytosolic phospholipase A2 and F2 isoprostanes are involved in semen quality and human infertility—A study on leucocytospermia, varicocele and idiopathic infertility. *Andrologia*. 52(2): 1–7, 2020.
209. Cam K, Simsek F, Yuksel M, Turker L, Haklar G, Yalcin S, et al. The role of reactive oxygen species and apoptosis in the pathogenesis of varicocele in a rat model and efficiency of vitamin E treatment. *International Journal of Andrology*. 27(4): 228–233, 2004.
210. Bolat D, Oltulu F, Uysal A, Kose T, Gunlusoy B, Yigitturk G, et al. Effects of losartan on experimental varicocele-induced testicular germ cell apoptosis. *European Urology Supplements*. 15(5): e1247, 2016.
211. Gürdal M, Kireççi S, Huri E, Karaman I, Türkeri L. Correlation Between Duration of Varicocele and Apoptosis in Testicular Tissue in an Experimental Model. *Urology*. 72(4): 933–936, 2008.
212. Zheng Y, Zhang X, Zhou J, Cheng F. Effects on the ipsilateral testis during progression of experimental varicocele in rat. *Med Sci Monit*. 14(6): 122–126, 2008.
213. Fujisawa M, Hiramane C, Tanaka H, Okada H, Arakawa S, Kamidono S. Decrease in apoptosis of germ cells in the testes of infertile men with varicocele.

World journal of urology. 17(5): 296–300, 1999.

214. La Vignera S, Condorelli R, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE. Effects of varicocelectomy on sperm DNA fragmentation, mitochondrial function, chromatin condensation, and apoptosis. *Journal of Andrology*. 33(3): 389–396, 2012.
215. Kim SJ, Jeon SH, Kwon EB, Jeong HC, Choi SW, Bae WJ, et al. Early and Synergistic Recovery Effect of Herbal Combination on Surgically Corrected Varicocele. *Alternative Therapies in Health & Medicine*. 26(3) 2020.
216. Agarwal A, Mahfouz RZ, Sharma RK, Sarkar O, Mangrola D, Mathur PP. Potential biological role of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) in male gametes. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 7: 1–20, 2009.
217. Silva JV, Freitas MJ, Correia BR, Korrodi-Gregório L, Patrício A, Pelech S, et al. Profiling signaling proteins in human spermatozoa: Biomarker identification for sperm quality evaluation. *Fertility and Sterility*. 104(4): 845-856.e8, 2015.
218. Celik-Ozenci C, Kuscu N, Gungor-Ordueri NE, Tasatargil A, Sahin P, Durmus H. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase may have preventive potential for varicocele-associated testicular damage in rats. *Andrology*. 5(2): 362–369, 2017.
219. Ranawat P, Bansal MP. Apoptosis induced by modulation in selenium status involves p38 MAPK and ROS: Implications in spermatogenesis. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 330(1–2): 83–95, 2009.
220. Almog T, Naor Z. Mitogen activated protein kinases (MAPKs) as regulators of spermatogenesis and spermatozoa functions. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 282(1–2): 39–44, 2008.
221. Luconi M, Barni T, Vannelli GB, Krausz C, Marra F, Benedetti PA, et al. Extracellular signal-regulated kinases modulate capacitation of human spermatozoa. *Biology of Reproduction*. 58(6): 1476–1489, 1998.
222. Seong JB, Bae YC, Lee HS, Huh JW, Lee SR, Lee HJ, et al. Increasing ERK

phosphorylation by inhibition of p38 activity protects against cadmium-induced apoptotic cell death through ERK/Drp1/p38 signaling axis in spermatocyte-derived GC-2spd cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 384(April): 114797, 2019.

223. Tan B-J, Chiu GNC. Role of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and ERK activation in triptolide-induced apoptosis. *International journal of oncology*. 42(5): 1605–1612, 2013.

224. Machen GL, Johnson D, Nissen MA, Naber E, Sandlow JI. Time to improvement of semen parameters after microscopic varicocelectomy: When it occurs and its effects on fertility. *Andrologia*. 52(2): 1–5, 2020.

10. ETİK KURUL ONAYI



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı

E-İmzalıdır

Sayı : 10840098-604.01.01-E.53829
Konu : Etik Kurulu Kararı

30/09/2019

Sayın Selva Şen

Üniversitemiz Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna yapmış olduğunuz “Varikozel ve varikoselektomi'nin oluşturduğu anatomik değişikliklerin insan ve hayvanda sperm parametrelerine ve sperme etkilerinin araştırılması” isimli başvurunuz incelenmiş olup etik kurulu kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar
Etik Kurulu Başkanı

Ek:
-Karar Formu (2 sayfa)

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK tarafından 30.09.2019 tarihinde e-İmzalanmıştır. Evrağınızı <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden 72D6B966X2 kodu ile doğrulayabilirsiniz.

İstanbul Medipol Üniversitesi

Kavacık Mah. Ekinciler Cad. No.19 Kavacık-Kavşağı - Beykoz
34810 İstanbul

Tel: 444 85 44
İnternet: www.medipol.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin: iletisim@medipol.edu.tr

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU KARAR FORMU

Değerlendirilen Belgeler	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ/PLANI				Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU				Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
Karar Bilgileri	Karar No: 714		Tarih: 25/09/2019			
	Yukarıda bilgileri verilen Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve araştırmanın etik ve bilimsel yönden uygun olduğuna "oybirliği" ile karar verilmiştir.					

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Şeref DEMİRAYAK	Eczacılık	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK	Farmakoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mete ÜNGÖR	Endodonti	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. İlknur KESKİN	Histoloji ve Embriyoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Sibel DOĞAN	Psiko-onkoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Hikmet ÜÇİŞİK	Biyoteknoloji	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Devrim TARAKCI	Fizyoterapi ve Rehabilitasyon	İstanbul Medipol Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

* :Toplantıda Bulunma

Sayfa 2

Sayfa 1



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

E-İmzalıdır

Sayı : 38828770-604.01.01-E.53856
Konu : Etik Kurulu Kararı

30/09/2019

Sayın Selva Şen

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna yapmış olduğunuz “Varikosektomi ve varikoselektomi'nin oluşturduğu anatomik değişikliklerin insan ve hayvanda sperm parametrelerine ve sperme etkilerinin araştırılması” isimli başvurunuz incelenmiş olup, etik kurulu kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(İMÜ-HADYEK) Başkanı

Ek:
-Karar Formu (1 sayfa)

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK tarafından 30.09.2019 tarihinde e-imzalanmıştır. Evrağınızı <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden CC956F29X9 kodu ile doğrulayabilirsiniz.

İstanbul Medipol Üniversitesi

Kavacık Mah. Ekinçiler Cad. No.19 Kavacık Kavşağı - Beykoz
34810 İstanbul

Tel: 444 85 44
İnternet: www.medipol.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin : iletisim@medipol.edu.tr



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (İmü-Hadyek) Kararı

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
25/09/2019	59		Selva Şen

“Varikozel ve varikosektomi”nin oluşturduğu anatomik değişikliklerin insan ve hayvanda sperm parametrelerine ve sperme etkilerinin araştırılması” başlıklı bilimsel araştırma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna “ Oybirliği ” ile karar verilmiştir.
Etik Onay Geçerlilik Süresi: Mart 2020- 2 yıl

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Burak ÇAĞLAYAN	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Sultan Sibel ERDEM	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Mehmet OZANSOY	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Taha KELEŞTEMUR	
Üye	Uzm.Vet. Hek. Ekrem Musa ÖZDEMİR	
Üye	Cem GÜNEŞ	
Üye	Burak Sefa DERİBAŞ	