

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

121728

## DENEYSEL VARİKOSELİN EPİDİDİM ÜZERİNE ETKİLERİ

Dr.Uğur ÖZTÜRK  
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Ramazan AŞÇI

SAMSUN - 2006

## **TEŐEKKÖR**

*Tezin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı başta danışmanım Prof. Dr. Ramazan AŐŐI olmak üzere Üroloji Anabilim Dalının tüm öğretim üyelerine, Patoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. İlkser AKPOLAT ve Yrd. Doç. Dr. Mehmet KEFELİ'ye, Veteriner Fakóltesi Biyoistatistik Anabilim Dalından Yrd. Doç. Dr. Serhat ARSLAN 'a, Cerrahi Araştırma ve Uygulama Merkezi teknik personeline ve eřim Dr. Nuray ÖZTÖRK'e teőekkür ederim.*

## İÇİNDEKİLER

	<b>SAYFA</b>
İçindekiler	I
Tablo Listesi	II
Şekil Listesi	III
Kısaltmalar	IV
Özet	V
Abstract	VI
1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	2
2.1. Varikosel	2
2.1.1. İnsidans	2
2.1.2. Etiyoloji	2
2.1.3. Varikosel Patofizyolojisi	3
2.1.4. Varikosel ve Apoptozis	5
2.1.5. Varikosel ve Epididim	9
2.1.6. Deneysel Varikosel	11
3. Gereç ve Yöntem	12
3.1. Çalışma grupları	12
3.2. Cerrahi işlem	12
3.3. TUNEL Yöntemi ile apoptozis araştırılması	12
3.4. İstatistiksel Analiz	19
4. Bulgular	20
4.1. Epididim Ağırlıkları	20
4.2. Epididim Tübül Çapları	21
4.3. Apoptotik hücre	23
5. Tartışma	27
6. Sonuçlar	31
7. Kaynaklar	32

## **TABLO LİSTESİ**

	<b>SAYFA</b>
Tablo I: Grupların ortalama epididim ağırlıklarının karşılaştırılması	20
Tablo II: Epididim tübül çaplarının gruplara göre dağılımı	21
Tablo III: Epididim epitelinde TUNEL-pozitif hücre dağılımı	23

## ŞEKİL LİSTESİ

	<b>SAYFA</b>
Şekil 1: Dış ve iç uyarı sisteminin apoptozisi oluşturması	8
Şekil 2: Şematik epididimal anatomi	9
Şekil 3: Sol renal venin metal prob üzerinden 4/0 ipek sütür ile bağlanması	14
Şekil 4: Varikozel oluşturulmuş ratta dilate spermatik ven görüntüsü	15
Şekil 5: Bilateral skrotal orşiektomi ve epididimin testisten ayrılması	16
Şekil 6: A. TUNEL yöntemi ile boyanan kesitte apoptozis gelişmiş epididim tübül epiteli. B. PAS ile boyanmış kesitte epididim tübül çapı ölçümü	18
Şekil 7: Epididim ağırlıklarının gruplara göre dağılımı	21
Şekil 8: Epididim tübül çaplarının gruplara göre dağılımı	22
Şekil 9: Kaput epididim epitelinde apoptotik hücre görüntüsü. A. Normal kaput epididimise ait kesit. B. Apoptotik hücrenin gözleendiği kaput epididimise ait kesit görüntüsü (x200)	24
Şekil 10: Korpus epididim epitelinde apoptotik hücre görüntüsü. A. Normal korpus epididime ait kesit. B. Apoptotik hücrenin gözleendiği korpus epididime ait kesit görüntüsü (x200)	25
Şekil 11: Kauda epididim epitelinde apoptotik hücre görüntüsü. A. Normal kauda epididime ait kesit. B. Apoptotik hücrenin gözleendiği kauda epididime ait kesit görüntüsü (x200)	26

## **KISALTMALAR**

DNA: Deoksiribonükleik asit

RNA: Ribonükleik asit

FSH: Folliküler Uyarıcı Hormon

ROS: Reaktif Oksijen Radikalleri

GnRH: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon

mg: Miligram

g: Gram

kg: Kilogram

mm: Milimetre

Na<sup>+</sup>: Sodyum

K<sup>+</sup>: Potasyum

TUNEL: Terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling.

PAS: Periyodik Asit Schiff

FasL: Fas ligand

## ÖZET

**Amaç:** Varikozel infertilite ilişkisine yönelik çalışmaların çoğu testis üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışmada erişkin ratlarda deneysel varikozelin epididim morfolojisi üzerine olan etkilerini araştırmak amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Yirmi adet Sprague-Dawley rata sol renal venin kısmi obstruksiyonu ile deneysel varikozel oluşturulurken oniki adet rat kontrol, oniki adet rat sham grubunu oluşturdu. Gruplardaki ratlardan yarısı deneyin birinci, kalan yarısı ikinci ayında sakrifiye edildi. Epididim testislerden ayrılarak kuru ağırlıkları ölçüldü. PAS boyası ile epididim tübül çapları ölçülürken, epididim epitelindeki apoptozis TUNEL yöntemi ile araştırıldı.

**Bulgular:** Varikozel grubunun epididim ağırlıkları kontrol ve sham gruplarından anlamlı derecede düşük bulundu ( $p<0.01$ ). Varikozelli ratların iki ay sonraki sol epididim ağırlığı sağa göre düşüktü ( $p<0.01$ ). Varikozelli ratların epididim tübül çapları kontrol ve sham grubundan daha küçüktü ( $p<0.001$ ). İkinci ayda varikozelli grubun epididim kaput çaplarındaki azalma anlamlıydı ( $p<0.001$ ). Ayrıca varikozelli ratların ikinci aydaki sol epididim kauda tübül çapları sağ tarafa göre daha küçük bulundu ( $p<0.001$ ). Varikozelli ratlarda epididim epiteli esas hücrelerindeki apoptozis oranı sham ve kontrol grubunda daha fazlaydı. Kaput epididim epitelinde apoptotik hücreler diğer segmentlere göre daha fazla ve yön farkı yoktu.

**Sonuçlar:** Bu çalışmada deneysel varikozel, varikozelli taraf epididim ağırlığını, epididim tübül çapını önemli oranda azaltmakta ve epididim tübül epiteli esas hücrelerinde apoptozise yol açmaktadır. Deneysel varikozel karşı taraf epididimi de bozarken, varikozelli kalınan süre arttıkça epididimal hasar da artmaktadır.

**Anahtar sözcükler:** epididim, deneysel varikozel, apoptozis, erişkin rat

## **ABSTRACT**

**Objective:** Most of the studies investigating the relationship between varicocele and infertility are chiefly focused on the testicles. In this study, the impact of experimental varicocele on the epididymal morphology is investigated in a model of adult.

**Material and Method:** In twenty Sprague-Dawley rats, experimental varicocele was induced via partial obstruction of the left renal vein. Twelve rats served as controls, and another twelve served as shams. Half of the rats in the groups were sacrificed by the end of the first month of the experiment, and the rest were sacrificed by the end of the second month. The epididymides were dissected off the testicles and their dry weights were measured. Epididymal tubule diameters were measured via PAS staining and TUNEL assay was used to assess the epithelial apoptosis within the tubules.

**Findings:** Weights of the epididymides in the trial group was found to be significantly lower than those in the control and sham groups ( $p < 0.01$ ). In rats with varicocele, left epididymides weighted significantly lower than the right ones ( $p < 0.01$ ). Epididymal tubule diameters in rats with varicocele were significantly narrower than those in the control and sham groups ( $p < 0.001$ ). The decrease in epididymal caput diameters in rats with varicocele by the end of the second month was significant ( $p < 0.001$ ). At the same time, cauda tubule diameters of the same epididymides were significantly narrower than those on the left as well ( $p < 0.001$ ). Rats with varicocele displayed a significantly increased rate of apoptosis when compared with controls and shams. On the other hand, apoptotic activity within the caudal segment did not display any differences than of the other segments.

**Conclusions:** The findings of this study demonstrate that, experimentally induced varicocele significantly decreases epididymal weight and tubule diameter on the involved side and provoke apoptosis within the proper epithelial cells. Experimental varicocele inflicts damage to the opposite epididymides as well, and this damage increases over time.

**Key words:** epididymis, experimental varicocele, apoptosis, adult rat

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ:

Varikosel sözcüğü ilk kez 1843'de Curling tarafından "pampiniform pleksus içindeki testiküler venlerin anormal dilatasyonu" şeklinde tanımlanmıştır (50). Erkek populasyonunun %15-22'sini etkileyen varikosel, infertilite araştırması nedeniyle başvuranların ortalama %30-40'nda saptanmaktadır (33). Sıklık açısından önem arzeden varikosel progresif bir hastalıktır ve sekonder infertilite nedeniyle başvuran olgularda görülme sıklığının %69-81 oranına ulaşması, bunun en iyi göstergesidir (77).

Varikoselin testiste oluşturduğu histolojik değişiklikler bu konuda yapılmış araştırmaların çoğunun konusu olmuştur. Ayrıca varikoselin hangi mekanizmalarla testis fonksiyonunda bozulmaya yol açtığı, tek taraflı varikosel varlığında her iki testis fonksiyonunun hangi yollarla bozulduğu ve hastalığın patofizyolojisi açıklanmaya çalışılmıştır.

Epididim sperm olgunlaşması, depolanması ve iletimini sağlamaktadır. Kadın genital organında normal işlevini görecekt spermilerin epididimden geçmesi zorunludur(4). Erkek üreme fizyolojisinde çok önemli role sahip olan epididimin varikosel patofizyolojisinden ne derece etkilendiği ve bu etkilenmenin semen analizlerine ne derece yansıdığı yeterince aydınlatılamamıştır. Varikoselin epididim morfolojisinde yol açtığı değişiklikler konusunda literatür bilgimiz sınırlıdır. Varikoselin epididim yapısı üzerine olan etkisi deneysel bir çalışmada açıklanmaya çalışılmıştır (83).

Birçok klinik ve deneysel çalışma, varikoselin testiküler germ hücre apoptozisini artırdığını desteklemektedir (43). Varikoselde birçok patofizyolojik etkenin, apoptozis artışı meydana getirerek germ hücre kaybına yol açtığı düşünülmektedir (20,43,42). Buna karşın epididim epitelinde apoptozis artışı olup olmadığı daha önce araştırılmamıştır.

Bu çalışmada deneysel sol varikoselin epididim ağırlığı, epididim tübül çapı ve epididim tübül epitelinde apoptozis gelişimine olan etkilerini araştırmayı amaçladık.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1 Varikosel

Varikosel spermatik kord venlerinin dilatasyonu şeklinde tanımlanabilir (72). Varikosel primer ya da sekonder olabilir. Retroperitoneal veya pelvik bir tümör nedeniyle internal spermatik vende kompresyon ya da obstruksiyon oluşabilir. İleri yaşta kısa dönemde ortaya çıkan varikosel, böbrek tümörünün renal vene invazyonu sonucu oluşabilmektedir. Buna rağmen varikosellerin çoğu, özellikle infertilite ile ilgili olanlar primerdir (38).

**2.1.1. İnsidans:** Varikosel erişkin erkek popülasyonununun %15-22'sini etkileyen bir fiziksel anomalidir (26,44). İnfertilite araştırması nedeniyle başvuranların yaklaşık %30-40'ında varikosel saptanmaktadır (12,27). Buna karşın, varikosele sahip olguların %80'inde infertilite bulunmamaktadır (51). Genel erkek nüfusunun %15'inde varikosel saptanırken, infertil erkekler bu topluluğun ancak % 5'ini oluşturmakta ve geri kalan varikoselli erkekler fertil kalmaktadır (72). Dünya Sağlık Örgütü'nün 9043 hastanın değerlendirildiği projesinde, anormal semen parametrelerine sahip erkeklerin %25.4'ünde, normal semen parametrelerine sahip erkeklerin %11.7'sinde varikosel bulunduğu bildirilmiştir (75). Sekonder infertilite nedeniyle başvuran olgularda, varikosel görülme sıklığı %69-81 oranına ulaşmaktadır. Bu sıklık, varikoselin progresif olarak testis fonksiyonlarını negatif yönde etkilediğini göstermektedir (24,77). Bir çalışmaya göre varikoselin 2-10 yaşları arasında prevalansı %0.92 iken, 11-19 yaşları arasında %11 düzeyine ulaşmaktadır (2).

**2.1.2 Etiyoloji:** Varikosel lokalizasyon olarak sol tarafta daha sık görülür. Solda % 80-90 oranında bulunurken, tek başına sağ tarafta varikosel görülme oranı %2'den azdır (15). Bazı anatomik nedenler sol internal spermatik veni basınç artışı ve reflüye daha yatkın hale getirir. Sol internal spermatik ven (gonadal ven) sol renal vene dökülürken, sağda bu drenaj doğrudan inferior vena kavaya olur. Sol internal spermatik ven sol renal vene dik açıyla direne olurken, sağda dar açı ile oblik olarak vena kava inferiora drene olur. Ayrıca internal spermatik ven, solda sağa göre daha uzundur ve sol spermatik vende sağa oranla daha az venöz kapakçık olduğu bilinmektedir. Anatomik yapıdaki bu farklılıklar, ayakta dik

olarak duran bir erkekte sol internal spermatic vende daha yüksek bir hidrostatik basınç oluşmasına yol açar (11).

Sol gonadal venöz sistemde hidrostatik basınçta artışa neden olabilecek bir diğer anatomik mekanizma "nutcracker" yani fındık kıran fenomenidir. Farklı damarsal yapıların basısı ve gonadal venlerde yarattıkları basınç artışı yolu ile varikozel gelişimi olarak tanımlanır. Bu fenomenin iki tipi vardır: Proksimal tipte (klasik tip) kişi, özellikle dik pozisyonda iken renal ven, abdominal aorta ve süperior mezenterik arter arasında basıya maruz kalır. Distalinde kalan internal spermatic vende basınç artışı ve dilatasyon oluşur. Distal tipte ise sol iliak arter sol iliak vene bası yapar ve eksternal spermatic vende venöz basınç artar. Varikozelde internal venöz sistemdeki dilatasyona ek olarak, eksternal kremasterik sistemin dilatasyonu da klinik öneme sahiptir. Coombs, sol ana iliak venin parsiyel obstrüksiyonunda eksternal spermatic vende ve pampiniform pleksusta dilatasyon olduğunu göstermiştir (15,20). Testisin üçüncü venöz direnaji vazal venler aracılığıyla olmaktadır. Vazal venlerde varikozel bildirilmemiştir.

### **2.1.3 Varikozel Patofizyolojisi:**

**a)Hipertermi:** Varikozelin neden olduğu testiküler işlev değişikliği için en yaygın kabul gören mekanizmadır. Skrotal ısıyı iki termoregülatör sistem kontrol eder. İlk sistem skrotumun kendisidir. Skrotum ciltaltı yağ dokudan fakirdir. Skrotum yüzey alanı dartos kası tarafından kontrol edilebilmektedir. Sıcak ortamda dartos gevşeyerek skrotum alanı genişlemektedir. İkinci sistem ise spermatic kord içindeki pampiniform pleksustaki, arteriyel ve venöz kan arasında 'countercurrent' ısı değişimini içermektedir (17).

Varikozele bağlı intratestiküler ısı artışı ilk kez 1971'de gösterilmiş ve tek taraflı lezyonun iki taraflı etki oluşturduğu bildirilmiştir (85). Hayvanlarda deneysel olarak oluşturulan varikozel modellerinde de skrotal ısı araştırılmıştır. Tek taraflı oluşturulan deneysel varikozelin köpek ve ratlarda bilateral intraskrotal ısı artışına yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca artmış intraskrotal ısının testiküler histolojide de anormalliklere neden olduğu ve ejakülattaki sperm kalitesini düşürdüğü bildirilmiştir (56). Artmış intratestiküler

ısının hangi mekanizma ile spermatogenezi bozduğu tam olarak bilinmemektedir. Seminifer tübül ve/veya Leydig hücre düzeyinde nükleer DNA ve RNA bağlayıcı proteinlerde doğrudan termal hasar oluşturarak spermatogenezi etkilediği düşünülmektedir. Varikosel hücre fonksiyonlarını kısa dönemde değil, uzun dönemde bozmaktadır. Olası bir diğer mekanizma ise artmış ısının DNA polimeraz aktivitesini azaltmasıdır (22).

**b) Hormonal Disfonksiyon:** Varikoselli olgularda endokrin fonksiyonları araştıran birçok çalışmada çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Genel olarak, varikoselli erkekler, bir dereceye kadar endokrin disfonksiyona ve azalmış steroidogeneze sahiptir (20). Bazı çalışmalar azalmış serum testosteron seviyeleri saptarken (3,69), bazıları ise normal seviyeler bulmuştur (29,63). İntratestiküler testosteron, spermatogenez regülasyonunda anahtar rol oynar ve serum seviyelerinden bağımsızdır. Şimdiye kadar varikoselli hastalarda intratestiküler testosteron seviyelerini gösteren çalışma yayınlanmamıştır (30).

DeneySEL varikosel modelinde serum testosteron konsantrasyonunda etkilenme olmaksızın, intratestiküler testosteronda belirgin azalma olduğu bildirilmiştir (54). Bir başka rat modelinde ise, sol varikosel oluşturulduktan sonra bilateral intratestiküler testosteron konsantrasyonunun azaldığı gösterilmiştir (68). Serum testosteron seviyeleri ile ilgili değişken durum, kompensatuar Leydig hücre hiperplazisi ile ilişkili olabilir. Leydig hücreleri sayıca artsa da, normal fonksiyon görmediği gösterilmiştir (60). Cerrahi düzeltilmeden sonra serum testosteron seviyeleri normal seviyelerine dönmektedir (29). Sertoli hücre disfonksiyonu FSH'a karşı azalmış cevap, inhibin, transferrin ve androjen binding protein seviyelerindeki değişim ile araştırılmıştır. Varikoselli erkeklerin bazılarında artmış FSH ve azalmış testosteron üretimi gösterilmiştir. Bu erkeklerin büyük bir kısmı varikoselektomi tedavisine yanıt vermektedir (30,10).

**b)Renal ve Adrenal Metabolitlerin Reflüsü:** Böbrek ve böbreküstü bezinden gelen metabolitlerin internal spermatik ven yolu ile yüksek konsantrasyonlarda testise reflüsü, testis işlev bozukluğuna yol açmaktadır (52). Yapılan çalışmalarda spermatik ve perifer venlerde kortizol ve renin seviyeleri arasında fark bulunmazken, spermatik vendeki katekolamin ve prostoglandin seviyelerinin periferal venlerdekinden daha yüksek olduğu bulunmuştur (35,52). Venlerdeki bu artmış katekolamin, 'countercurrent' değişim sistemi

yoluyla pleksus panpiniformis düzeyinde testiküler arterlere geçer. Testiküler arterlerde artmış noradrenalin düzeyi arteriyollerde vazokonstriksiyon oluşturur ve testiküler hipoksiye katkıda bulunur (61). Prostaglandinler ile epididimal kontraktilite arasındaki ilişki gösterilmiştir (14). Prostaglandinlerin testislere reflüsü, belki de epididimlerdeki sperm olgunlaşmasını ve iletimini bozarak varikoselin infertilite etkisini oluşturmaktadır (64).

**c)Venöz Basınç:** Varikosel ve venöz basınç değişiklikleri arasındaki ilişki yıllardır tartışılan patofizyolojik mekanizmalardan birisidir. Varikosele ikincil gelişen venöz basınç artışı testis kan akımını etkileyebilmektedir (62). Kronik prekapiller vazokonstriksiyon, testisin beslenmesini olumsuz yönde etkileyebilir ve spermatogenezi bozabilir. Ayrıca artmış venöz basınç, intratestiküler onkotik ve hidrostatik basınçlarda değişikliğe neden olarak hormonların parakrin ve taşınma ortamını değiştirebilir, mikrovasküler sıvı değişimini bozabilir (34).

**e)Otoimmünite:** Sperm bağlayan antikolar, varikoselli infertil erkeklerde varikoseli olmayanlara göre daha yüksek oranda bulunmuştur (23). Buna rağmen cerrahi düzeltme antikor durumunu değiştirmez. Varikoselle ilişkili infertiliteye immunolojik bir komponentin katkıda bulunması pek olağan değildir (41).

#### **2.2. 4. Varikosel ve Apoptozis**

Çok hücreli organizmalarda hücre sayısının kontrolü, hücre çoğalması ve hücre ölümü arasındaki dengenin devamı ile sağlanır. Apoptozis programlı ve fizyolojik bir hücre ölüm şekli olması nedeniyle bu dengenin sürdürülmesinde önemli rol oynar (6). Apoptozis embriyogenez, menstrüel siklus ve timus gelişimi gibi fizyolojik; tümörlerde hücre ölümü ve hormonlara bağlı doku atrofisi gibi patolojik olaylarda görülebilir. Hafif şiddette fiziksel ve toksik uyarılara maruz kalan dokularda da apoptozis görülür. Örneğin hipertermi, düşük doz sitotoksik ilaçlar, iyonize radyasyon, hafif travma, hafif hipoksi apoptozise neden olur (8). Bu anlamda apoptozis spesifik bir uyarana maruz kalan hücrenin, bu uyarana aktif olarak verdiği düzenleyici bir cevaptır (16).

Hücre ölümü, nekroz ve apoptozis olmak üzere başlıca iki şekilde meydana gelir. Nekroz ve apoptozis arasında biyolojik ve morfolojik olmak üzere belirgin değişiklikler vardır (13,78). Nekroz, kimyasal ve fiziksel zararlanmaları takiben ortaya çıkan patolojik bir ölüm şeklidir. Başta mitokondri olmak üzere sitoplazmik organeller hasarlanır, hücre membranı selektif permeabilitesini kaybeder ve şişerek rüptüre olur. Hücre içeriği çevre dokuya yayılarak inflamatuvar bir cevaba neden olur. Apoptotik hücrede, nekrozun aksine en çarpıcı değişiklik çekirdekte meydana gelir. Tüm çekirdek kondanse olur. DNA'nın fragmentasyonu meydana gelir. Hücre küçülür, yüzeyinde stoplazmik çıkıntılar meydana gelir. Hücre her biri membranla kaplı birçok apoptotik partiküle ayrılır. Komşu hücreler ya da fagositler tarafından bu apoptotik partiküller fagosite edilerek dokudan hızla uzaklaştırıldığı için inflamatuvar reaksiyon görülmez (6).

Apoptozis, çok çeşitli iç ve dış uyarı ile tetiklenebilmektedir (79). Toksinler, iyonize radyasyon, reaktif oksijen radikalleri, çeşitli kimyasallar, yaşlanma veya iskemi sonucu gelişen hasarlar hücredeki apoptotik süreci aktive edebilir. Çekirdekte, hücre membranında, mitokondride veya hücre içinde herhangi bir bölgeden gelebilecek bir uyarı apoptozisi başlatabilir. DNA'da oluşan bir hasar önemli bir uyarıdır. DNA hasarlanmasını takiben aktive olan p53'ün apoptozisi tetiklediği, aynı zamanda apoptozisi uyaran bir gen olduğu gösterilmiştir (6). P53 tarafından başlatılan apoptozis, bcl-2 genleri aracılığı ile gerçekleşir (1). Her bir proapoptotik bcl-2 genleri farklı uyarılara yanıt vermelerine karşın ana işleyişi, artmış mitokondrial membran geçirgenliği ile sağladıkları hücre ölümünü başlatmayı uyarmak ile olur (42). Apoptozisi indükleyen bazı fizyolojik sitokinler de vardır. Örneğin apoptozis ilişkili bir reseptör olan Fas'ın (CD 95) kendi ligandı ile etkileşimi sonucu apoptozis gelişebilmektedir. Fas ligandın (FasL) kendi reseptörü olan Fas ile etkileşimi sonucu apoptozis sinyali, yüzeyinde Fas molekülü bulunan hücrenin nükleusuna iletilir ve Fas ekspresyonu olan hücrede apoptozis ile ölüm meydana gelir. Fas ilişkili apoptozis daha çok immün sistem regülasyonunda görev almaktadır (6,49), (Şekil 1).

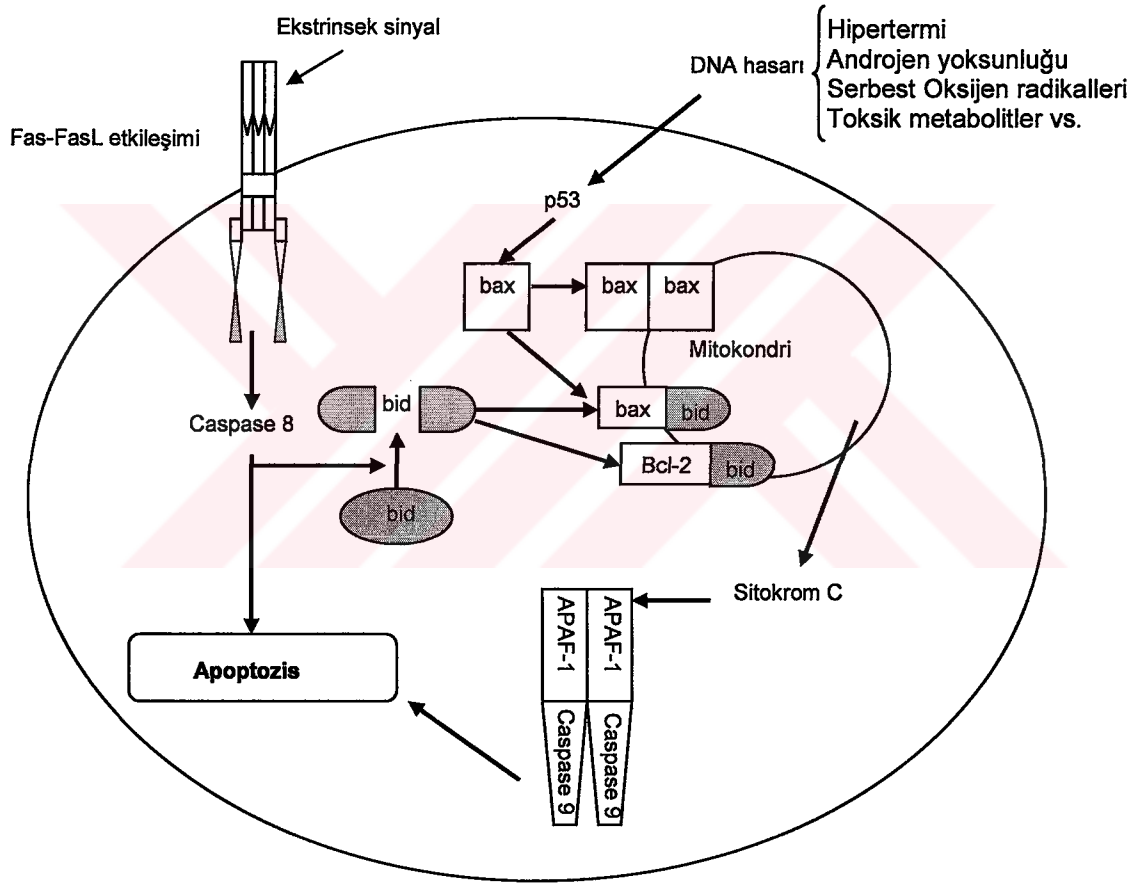
Apoptozisi başlatabilen tüm bu uyarılar, sonuç olarak kaspazların (sistein proteazlar) aktivasyonuna neden olmaktadır. Kaspazların aktivasyonu ile kromatin kondansasyonu, DNA fragmentasyonu gibi apoptozise ait karakteristik morfolojik ve biyokimyasal

değişiklikler gelişmektedir. Kaspazlar, apoptozisin etkili kolunu oluşturmakta ve apoptoza giden bütün hücrelerde aynı şekilde gelişmektedir (66), (Şekil 1).

Varikozel artmış ısı, androjen yoksunluğu, toksik uyarıcı ve artmış seminal ROS aktivitesi nedeniyle apoptozise yol açabilir. Bu faktörlerle DNA'da oluşan hasar önemli bir uyarıcıdır (43). Lue ve arkadaşları, varikozelin neden olduğu ısı artışının germ hücrelerinde, hücreye ve evreye özgül olarak apoptozise neden olduğunu gösterdiler (47). Sıçan modellerinde androjen yoksun bırakma ve apoptozis ilişkisi araştırılmıştır. İmmatür ratlarda hipofizektomiden dört gün sonra apoptozis indüklenirken, matür ratlarda ancak GnRH antagonistleri ile apoptozis indüklenmektedir (65). Hayvan deneylerinde 2-metoksi etanol, etilenglikol eter ve bunların yan ürünü 2-metoksiasetikasit gibi toksik maddelerin hayvan deneylerinde apoptozise yol açarak spermatozoid ölümüne neden olduğu gösterilmiştir (45). Son çalışmalar da varikozelli olguların testis biyopsilerinde kadmiyum depolanması ve her yuvarlak tübüldeki apoptotik hücre oranı arasında korelasyon bulunmuştur (31). Varikozelli olgularda artmış seminal ROS'un, azalmış fertilite ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Artmış seminal ROS, sperm DNA'sında hasara neden olabilir. Varikozelli olguların semen örneklerinde varikozeli olmayanlara göre daha yüksek konsantrasyonlarda ROS bulunduğu bildirilmiştir (76). Ayrıca seminal ROS aktivitesinin apoptozisi artırdığını gösteren çalışmalar vardır (43).

Deneysel varikozel modellerinde de germ hücre apoptozis artışı gösterilmiştir (43). TUNEL metodunu kullanan bir çalışmada kontrol grubu ratlarda testisteki germ hücreleri bir dereceye kadar apoptozise sahip olsalar da, varikozelli gruptaki apoptozis oranı belirgin olarak daha yüksek bulunmuştur(82). Bir başka çalışmada, ratlarda varikozel oluşturulduktan 14 gün sonra, varikozelli taraf testiste germ hücre apoptozis artışı, kontrollere göre yüksek bulunurken, karşı taraf testiste kontrol grubundan farklı bulunmamıştır (7). Gürdal ve arkadaşları varikozel oluşturulan ratlarda sham grubuna göre her iki testiste germ hücre apoptozisinde artışı göstermişlerdir. Ayrıca varikozelli kalınan sürenin artmasıyla apoptozis oranında artış olduğunu raporlamışlardır (25). Buna karşın bir deneysel çalışmada varikozel ve apoptozis arasında bir ilişki saptanmamıştır (39). Bu çalışmada sham grubunda varikozel ve kontrol grubuna göre daha fazla apoptotik germ

hücre saptanması, renal venin cerrahi manuplasyonu ile gelişen inflamasyona bağlanmıştır. Bununla birlikte sonuçlar, ratlardaki varikozel modellerinin değişen oranlarda artmış germ hücre apoptozisi ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

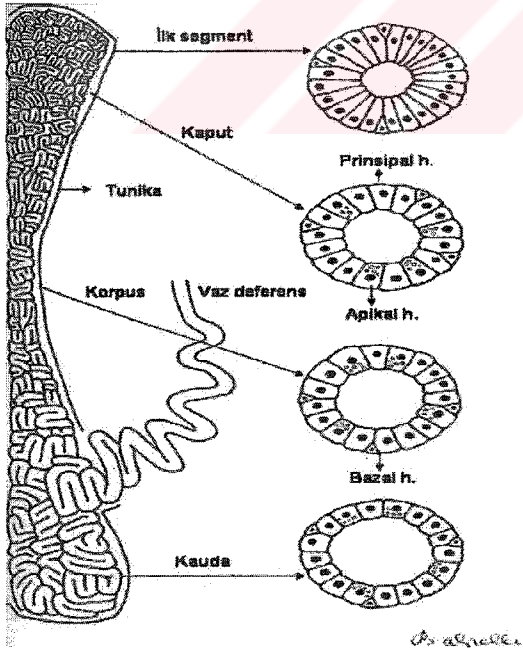


Şekil 1: Dış ve iç uyarı sisteminin apoptozisi oluşturması.

### 2.1.5 Varikosel ve Epididim

Birçok memelide epididimin sperm olgunlaşması, depolanması ve transportunu sağlayarak erkek üreme sisteminde çok önemli bir rol üstlendiği gösterilmiştir. Kadın genital organında normal işlevini görebilecek spermier epididimden geçmek zorundadır. Normal şartlarda koitusu takiben fertilizasyon için spermierin kadın genital sisteminde canlı kalmaları, fertilizasyon bölgesine göç etmeleri, ovuma bağlanmaları ve kapasitasyon ve akrozom reaksiyonu göstermeleri gerekmektedir. Spermatozoa olgunlaşmasını sağlayan epididimin insanlarda bu işi nasıl yaptığı henüz tam olarak bilinmemektedir (4).

İnsanlarda epididim 3-4 metre uzunluğunda tek bir tübülden oluşur (28). Anatomik olarak kaput, korpus, kauda olarak üç bölgeye ayrılır. İnsanlarda kaput epididimise 8-12 adet efferent kanal açılmaktadır (55,57). Son efferent kanalla bağlantı yapıktan sonra epididimal tübül lümeni oval bir yapıda ve çapı korpusa kadar aynı kalır. Kauda epididimde ise tübül çapı artmaya başlar ve lümeni irregüler bir şekil alır. Daha distalde vaz deferens benzeri bir görüntü ortaya çıkar (4), (Şekil 2).



Şekil 2: Şematik epididimal anatomi

Epididim epiteli sterosilyalı veya mikrovilili psödostratifiye kolumnar epiteldir. Epitel iki ana hücre tipi içerir: Esas hücreler ve bazal hücreler. Epididimin proksimal bölümünde uzun, distal bölümünde kısa yapı ve stereosiliya sahiptirler. Fazla miktarlarda mikropinositik vezikül, apekte çevrelenmiş boşluklar, multiveziküler cisimler, apekse yakın irregüler şekilli membranöz veziküllere ek olarak bol golgi aygıtı içermesi esas hücrelerin hem absorbtif hem de sekretuar işlev gördüklerini gösterir (73). Bazal hücrelerin lokal immun defans oluşturan dokuya fiske makrofaj oldukları gösterilmiştir. Epididim duvarında intraepitelyal lenfositler de saptanmıştır. Bunların immun defansta rol alan daha çok sitotoksik ve supresör T lenfosit oldukları düşünülmektedir (67).

Laboratuvar çalışmalarında epididimal sıvının gliserilfosforilkolin, karnitin ve sialik asit gibi komponentleri belirlenmiştir. Ek olarak, epididimal sıvı spermatozoa üzerine fizyolojik etkileri olan proteinler içermektedir (84). Hayvanlarda epididim lümenindeki sıvının biyokimyasal olarak sadece kan plazmasından değil, epididim bölgeleri arasında da farklı olduğu anlaşılmıştır. Epididim bölgelerinde lümen sıvısı osmolarite, elektrolit ve protein içerikleri bakımından farklıdır. Bu farklılık epididimin multifonksiyonel doğasından, tübül boyunca farklı vaskülerizasyon, kan epididim bariyerinin yarıgeçirgen oluşundan, selektif absorpsiyon ve farklı sekresyon özellikleri dolayısıyla ortaya çıkmaktadır (58).

Ratlarda artmış intraskrotal ısının epididim işlevlerini etkilediği gösterilmiştir. Epididimlerin karın boşluğuna yerleştirilerek vücut ısısı ile karşılaşması sperm depolama ve elektrolit transport işlevinin kaybına yol açmaktadır (37). Bir deneysel çalışmada abdominal ısı artışının, kauda epididim epitelinde apoptozisi arttırdığı rapor edilmiştir (36). İnsanlarda epididimin benzer şekilde ısdan etkilenip etkilenmediği bilinmiyor. Ayrıca varikosele bağlı infertilitenin bir nedeni de artmış ısının epididim işlevlerini bozmasına bağlı olabilir.

Hayvan çalışmalarında epididimal işlevlerin androjenlere bağlı olduğu anlaşılmıştır (80). Tümüünün değil ama çoğu epididimal proteinler androjenlere bağımlı olarak sentezlenir (40). Bilateral kastrasyon sonrası sadece androjene bağlı epididimal proteinlerinin sentezi değil, epididim ağırlığında azalma, epididim tübül epitelinde apoptozis gelişimi,

gliserilfosforilkolin, sialik asit ve karnitin gibi epididimal sıvı komponentlerinin sentez ve sekresyonunda değişiklikler ortaya çıkmaktadır (18). Patofizyolojisinde intratestiküler testosteron dūşüklüęünün de suçlandığı varikoselde, epididim epitelinde apoptozis gelişimi konusunda henüz literatür verisi mevcut değildir.

Varikosel ile ilgili bilgiler her geçen gün artmasına rağmen, patofizyolojisi konusunda kesin sonuçlara henüz ulaşılamamıştır. Çalışmaların çoğu varikosel ile oluşan testiküler hasar üzerine odaklanmıştır. Buna karşın, varikoselin üreme fizyolojisinde önemli rolü olan epididim üzerine etkilerini araştıran çalışmaların sayısı ve niteliği yetersizdir. Varikoselin epididim morfolojisinde yol açtığı değişiklikler konusunda da bilgiler sınırlıdır. Daha önce varikosel ve epididim ilişkisi deneysel bir çalışmada (83) açıklanmaya çalışılmış; ancak epididimin ana fonksiyonel hücreleri olan esas hücrelerde apoptozis araştırılmamıştır.

### **2.1.6 Deneysel Varikosel**

Varikoselin fizyolojik ve biyolojik sonuçları hakkındaki spesifik soruları insanlar üzerinde yapılan araştırmalarla yanıtlamak zordur. Doku elde etme sınırlıdır. Deneysel amaçlar için cerrahi invazyon yasaklanmıştır. Uygun sayı ve yaşta, varikosel süresi bilinen, ve istenen karakteristik özelliklere sahip kontrol ve varikosel olgusu bulmak güçtür. Hayvan modellerinin kullanılması varikosel ile ilgili bilgilerin geliştirilmesinde yararlı olmuştur. Deneysel varikosel modelinde sol renal venin kısmi obstruksiyonu, proksimalde artmış intravenöz basınca neden olur. Bu basınç sol spermatik vene taşınarak varikosel gelişimine neden olur. Bu yöntem varikoselin major sebeplerinden biri olduğuna inanılan "Nutmcracker" fenomenini taklit eder. Bu güne kadar köpek, tavşan, maymun ve ratlarda sol venin kısmi olarak bağlanmasıyla deneysel varikosel oluşturulmuştur (71).

Bu çalışmada ratlarda deneysel varikosel oluşturarak, varikoselin epididim morfolojisine olan etkilerini araştırmayı planladık.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM:**

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı tarafından Patoloji Anabilim Dalının katkısı ile yapıldı. Çalışmanın deneysel aşaması Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Çalışma öncesi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan (2005/084) onay alındı.

Çalışma için cerrahi araştırma merkezinde yetiştirilen, standart yem ve çeşme suyu ile beslenen, aynı odada 12 saat gece ve 12 saat gündüz ortamında tutulan 44 adet 32-36 haftalık, ağırlıkları 280 ile 330 g. arasında değişen erişkin erkek "Sprague-Dawley" cinsi ratlar seçildi.

#### **3.1 Çalışma grupları:**

**Grup 1A:** Varikozel grubu on adet rattan oluştu.

**Grup 1B:** Sham grubu altı adet rattan oluştu.

**Grup 1C:** Kontrol grubu altı adet rattan oluştu.

**Grup 2A:** Varikozel grubu on adet rattan oluştu.

**Grup 2B:** Sham grubu altı adet rattan oluştu.

**Grup 2C:** Kontrol grubu altı adet rattan oluştu.

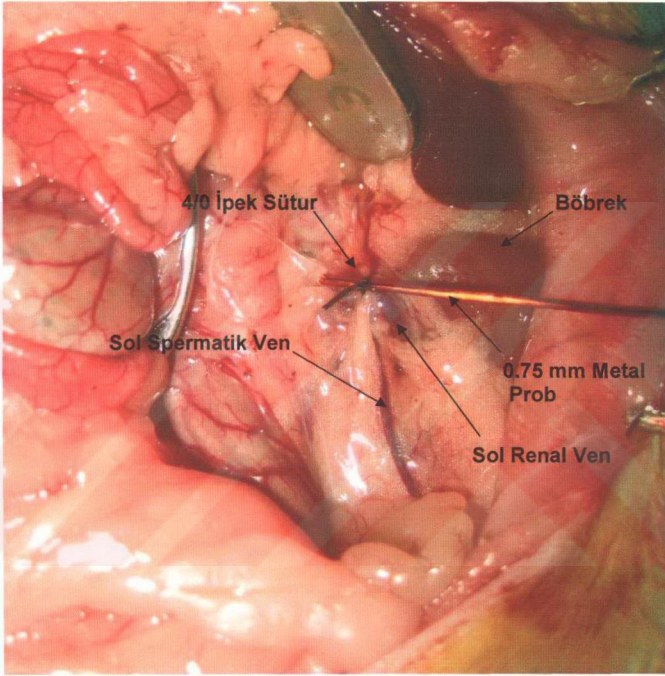
#### **3.2 Cerrahi işlem:**

Genel anestezi için 10 mg/kg Xylazine hidroklorid (Rompun flakon, Bayer) ve 80 mg/kg Ketamine hidroklorid (Ketalar flakon, Eczacıbaşı) kombinasyonu intramuskuler olarak uygulandı. Tüm deneklere 20mg/kg dozunda sefazolin sodyum intramusküler uygulanarak cerrahi antibiyotik profilaksisi yapıldı.

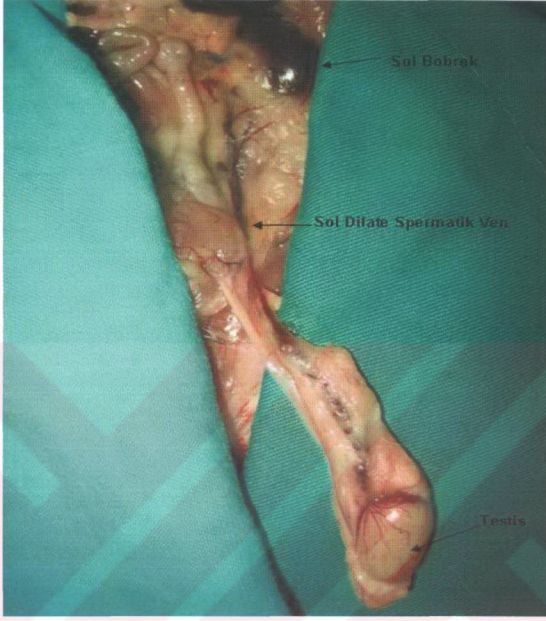
Sham operasyonu ve sol varikozel oluşturulacak ratların karınları traş edilerek Povidone Iodine solüsyonu ile temizlendi. Yalnızca cerrahi alan açıkta kalacak şekilde steril örtülerle kapatıldı.

**a)Deneysel Varikozel (Grup 1A, 2A):** Orta hat kesisi ile karın boşluğuna ulaşıldı. İntestinal yapılar medialize edilerek sol böbrek bulundu. Sol renal ven çevre dokulardan serbestleştirildi. Sol sürrenal ve sol spermatik venin açılım yerlerinin distalinden renal ven, metal prob üzerinden 4/0 ipek suture ile bağlandı. Metal probun çapı renal veni yaklaşık %50 daraltacak şekilde 0.75 mm seçildi (Şekil 3). Metal prob daha sonra sol renal venin bir miktar genişlemesine izin verecek şekilde geri çekildi. Bütün ratlarda bağlama işleminden sonra renal venin hemen dolgunlaştığı görüldü. Karın orta hat kesileri 3/0 ipek suturelerle tek kat halinde kapatıldı. Şekil 4'de varikozel oluşturulmuş ratta dilate spermatik ven görülmektedir.

**b)Sham operasyonu (Grup 1B, 2B) :** Varikozel operasyonu uygulanan grupta olduğu gibi sol renal venin açığa çıkarılmasına kadar aynı işlemler uygulandı. Renal ven obstrakte olmayacak şekilde 4/0 ipek suture ile gevşek olarak bağlandı. Karın orta hat kesileri 3/0 ipek suturelerle tek kat halinde kapatıldı.

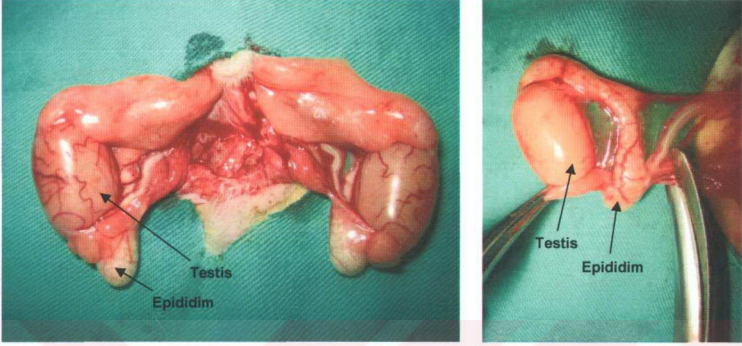


Şekil 3: Sol renal venin metal prob üzerinden 4/0 ipek suture ile bağlanması.



Şekil 4: Varikozel oluşturulmuş ratta dilate spermatic ven görüntüsü.

Varikozel ve sham operasyonları yapıldıktan dört hafta sonra grup 1A, 1B, 1C 'ye, sekiz hafta sonra grup 2A, 2B, 2C'ye bilateral skrotal orşiektomi yapıldı. Testis ve epididimler çevre dokulardan temizlendi. Her bir epididim, eferent kanal ve vas deferensden kesilerek testisten ayrıldı (Şekil 5). Epididimlerin kuru ağırlığı XE220A Precisa marka hassas terazi ile tartıldı.



Şekil 5: Bilateral skrotal orşiektomi ve epididimin testisten ayrılması

Takiben spesmenler 24 saat tamponlanmış %10'luk nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Epididimler kaput, korpus ve kauda olarak örneklenerek ayrı kasetlerde Shandon Citadel 2000 cihazında rutin doku takip işlemine sokuldu ve parafin bloklar hazırlandı. Parafin bloklardan ikişer kesit alınarak tübül çapı ölçümünde bazal membranları daha iyi değerlendirmek için Periyodik Asit Schiff (PAS) boyası ve apoptozis değerlendirmek için de TUNEL yöntemi uygulandı.

PAS ile boyanan kesitler gruplar hakkında bilgisi olmayan patoloji uzmanı tarafından değerlendirildi. Morfometrik çalışma için ışık mikroskopunun (Zeiss, Axiophot, Germany) x100 büyütmesinde tübüllere ait görüntüler dijital video kamera (Insight Diagnostic Instrument, USA) ile bilgisayara aktarıldı. Görüntü analiz programı morfometri yazılımı (Samba Technologies 2005, morphometry analysis, France) ile değerlendirildi. Tübüllerin birbirine paralel duran duvarları arasındaki uzaklık hesaplanarak çapları ölçüldü (Şekil 6B). Her preparatta dijitalize edilen görüntü üzerinde 10 tane tübül morfometrik incelemeye alınarak çapları ölçüldü.

**3.3. TUNEL ( terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling) Yöntemi ile Apoptozis araştırılması:** Apoptozis TUNEL Yöntemi ile araştırıldı. Kit olarak In Situ Cell Death Detection Kit, POD (Roche, Germany, 2004) kullanılmıştır.

Doku kesitleri 3 (triethoxysilyl) propylamine (APES) (Merck) ile hazırlanan adheziv lamlara alındı. Gece boyu (12 saat) 56 derecelik etüvde bekletildikten sonra ksilen ve alkolden geçirilerek deparafinize edildi. Distile su ile yıkanan preparatlar antijen retrieval solüsyonu içinde (0.1 M pH 6.0 sitrat buffer) mikrodalgada 5 dakika 350 watt'ta bekletildi. Oda ısısında soğuması beklendi ve sonra distile suda iyice yıkandı. Endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için metanol içerisinde hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit solüsyonu ile 5 dakika muamele edildi. Takiben distile suya alınıp iyice yıkandı. Her bir lama dokunun tümüne temas edecek şekilde TUNEL reaksiyon karışımı damlatıldı. Lamlar 37 derecelik etüvde bir saat bekletildi. Takiben distile su ile iyice yıkandı. Lamlar kenarları kurularak ve blok antikor damlatılarak 5 dakika bekletildi. Takiben POD (conjugated with horse-radish peroxidase) damlatıldı. Preparatlar 37 derece etüvde 30 dakika bekletildi. Süre sonunda distile su ile iyice yıkandı. Renklendirici ajan olarak 3,3'-diamino benzidin (DAB) içeren kit (DAKO, Carpinteria, USA) kullanıldı. Lamlar 2-5 dakika arasında kromojende beklerken, mikroskop ile yapılan kontrollerde boyanma gözlenenler distile suya alınıp 10-15 saniye mayers-hematoksilen ile muamele edildi. Takiben alkol ve ksilenden geçirilerek kapatıldı.

TUNEL yöntemi ile boyanan kesitler de gruplar hakkında bilgi verilmeksizin patoloji uzmanı tarafından Olympus BX 50 marka ışık mikroskopu ile değerlendirildi. Sayım işlemi kesit üzerinde x40 oküler merceğinde her epididim segmentinde 50 tübüldeki kahverengi boyanmış epididim epiteli esas hücreleri (Şekil 6A, 9B, 10B, 11B) sayıldı.



A



B

Şekil 6: A. TUNEL yöntemi ile boyanan kesitte apoptozis gelişmiş epididim tübül epiteli. B. PAS ile boyanmış kesitte epididim tübül çapı ölçümü.

### 3.4. İstatistiksel Analiz:

Grupların epididim ağırlıkları ve her grubun kaput, korpus, kauda için ayrı ayrı hesaplanan epididimal tübül çapları, istatistiksel olarak tesadüf bloklarına göre düzenlenmiş faktöriyel deneme desenine uygun olarak varyans analizi ile değerlendirildi.

Apoptotik hücre sayılarının Poisson'a uygun dağıldığı varsayılarak logaritmik bağlantı fonksiyonu kullanılarak Genelleştirilmiş Doğrusal Model eşitliklerinde (Generalized Model Equation) analiz edildi. Grup ortalamaları arasındaki farklılıkların incelenmesinde Lagrange istatistiklerinden yararlanılmıştır. Elde edilen veriler semikantitatif olarak skorlandı. Buna göre TUNEL-pozitif hücre sayısı ortalaması 0 (-); 0.1-0.5 arası (+); 0.51-1.0 (++) ve 1.0< (+++) olarak gösterildi.

#### 4. BULGULAR:

Deneye alınan toplam 44 erişkin rattan Grup 1A'daki bir rat, deneyin birinci haftasında öldü.

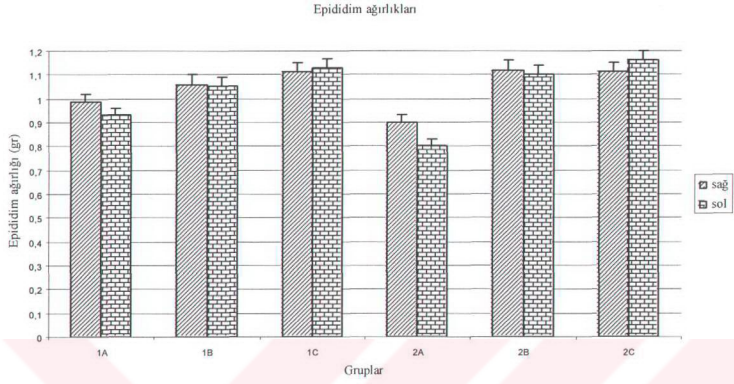
##### 4.1. Epididim Ağırlıkları:

Tablo I: Grupların ortalama epididim ağırlıklarının (g) karşılaştırılması.

Yön	Grup 1A	Grup 1B	Grup 1C	Grup 2A	Grup 2B	Grup 2C
Sağ	0.99±0.03	1.06±0.04	1.11±0.04	0.90±0.03	1.12±0.04	1.11±0.04
Sol	0.93±0.03	1.05±0.04	1.13±0.04	0.80±0.03	1.10±0.04	1.16±0.04

Varikoselli grupların, epididim ağırlıkları kontrol ve sham grubununkinden daha düşüktü. Ancak kontrol ve sham grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu belirlendi.

Grup 1A'nın epididim ağırlıkları, grup 1B ve 1C'ye göre düşük bulundu ( $p<0.01$ ). Grup 1A'nın sağ ve sol epididim ağırlıkları arasında anlamlı fark yoktu. Grup 2A'nın epididim ağırlıkları grup 2B ve 2C'den düşüktü ( $p<0.01$ ). Ayrıca grup 2A'nın sol epididim ağırlığı sağa göre daha düşük olup, fark istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0.05$ ) (Tablo I).



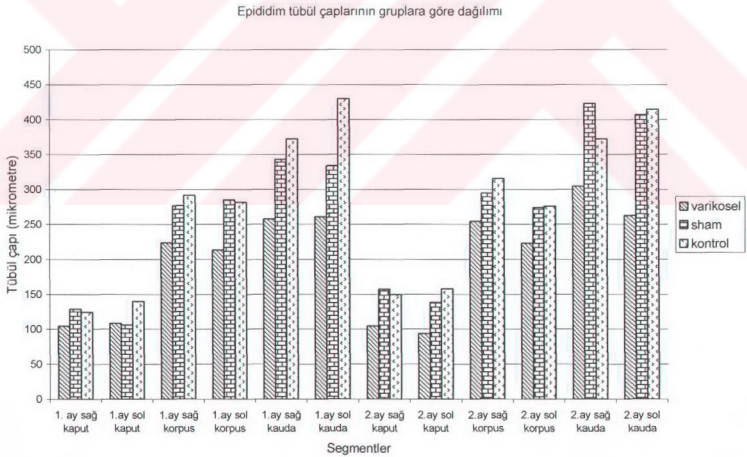
Şekil 7:Epididim ağırlıklarının gruplara göre dağılımı

#### 4.2. Epididim Tübül Çapları:

Tablo II: Epididim tübül çaplarının gruplara göre dağılımı

Segment	Yön	Grup 1A	Grup 1B	Grup 1C	Grup 2A	Grup 2B	Grup 2C
Kapat	Sağ	104.72±7.26	129.02±9.38	124.59±9.38	104.50±7.26	157.25±9.38	150.02±9.38
	Sol	108.62±7.26	106.13±9.38	139.89±9.38	93.72±7.26	138.18±9.38	157.90±9.38
Korpus	Sağ	223.75±7.26	277.18±9.38	291.59±9.38	254.38±7.26	294.96±9.38	315.50±9.38
	Sol	213.24±7.26	285.38±9.38	281.83±9.38	223.10±7.30	274.12±9.38	276.18±9.38
Kauda	Sağ	257.78±7.26	343.23±9.38	372.57±9.38	304.98±7.26	423.39±9.38	372.38±9.38
	Sol	261.32±7.26	334.11±9.38	429.96±9.38	262.83±7.26	406.83±9.38	414.57±9.38

Tablo II’de epididimal segmentlerde ortalama tübül çapları gösterilmiştir. Sağ ve sol kaput tübül çapı değerlerinde grup 1A, 1B, 1C arasında anlamlı fark yokken, grup 2A’nın tübül çapı değerleri, grup 2B ve 2C’den anlamlı olarak düşük bulundu ( $p<0.001$ ). Grup 1A’da sağ ve sol korpusa ait değerler grup 1B ve 1C’den, grup 2A’da sağ ve sol korpusa ait değerler ise grup 2B ve 2C’den istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ( $p<0.001$ ). Grup 1B ve 1C ile 2B ve 2C arasında anlamlı fark yoktu. Grup 1A’nın sağ ve sol kaudaya ait tübül çapı değerleri grup 1B ve 1C’den, grup 1B’nin sol kauda değerleri de grup 1C’den istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ( $p<0.001$ ). Grup 2A’nın sağ ve sol kauda değerleri grup 2B ve 2C’den kkt. Fark istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0.001$ ). Ek olarak grup 2B ve 2C arasında sol kauda değerlerinde anlamlı fark yokken, sağ kauda değerleri grup 2B’de grup 2C’ye göre anlamlı yüksek değerlere sahipti ( $p<0.001$ ). Grup 1A’da kaput, korpus, kauda tübül çaplarında yönler arasında fark yokken, grup 2A’nın segmentleri arasında sadece sol kauda değerleri sağa göre düşük bulundu. Fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.001$ ).



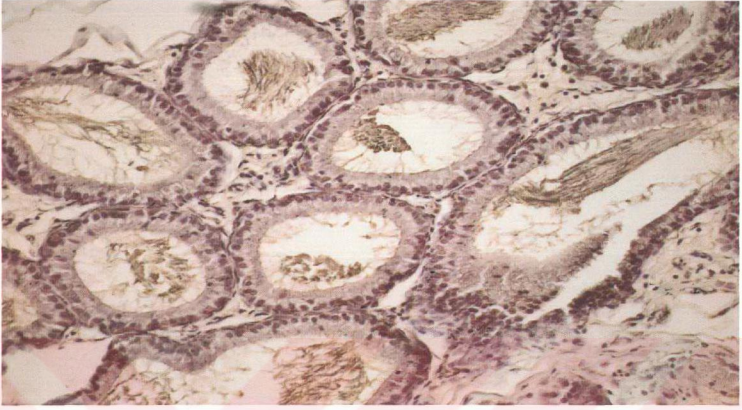
şekil 8: Epididim tübül çaplarının gruplara göre dağıtımı

### 4.3. Apoptotik hücre:

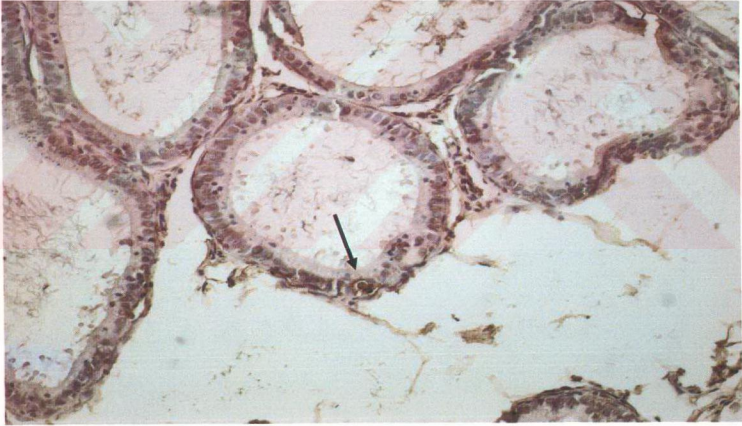
Tablo III: Epididim epitelinde TUNEL-pozitif hücre dağılımı

Segment	Yön	Grup1A	Grup 1B	Grup 1C	Grup 2A	Grup 2B	Grup 2C
Kaput	Sağ	++	+	+	+	+	-
	Sol	++	-	-	+++	+	+
Korpus	Sağ	+	+	-	++	-	+
	Sol	+	-	-	+	-	-
Kauda	Sağ	+	-	-	+	+	-
	Sol	+	+	-	+	-	-

Epididimal epitel hücrelerin TUNEL-pozitif değerlendirilmesinde semikantitatif skorlama sistemine göre gruplar arasında, grup 1A ve 2A'da diğer gruplara göre ve bu iki grubun da kaput segmentinin TUNEL-pozitif hücre sayısının daha fazla olduğu saptandı (Tablo III).

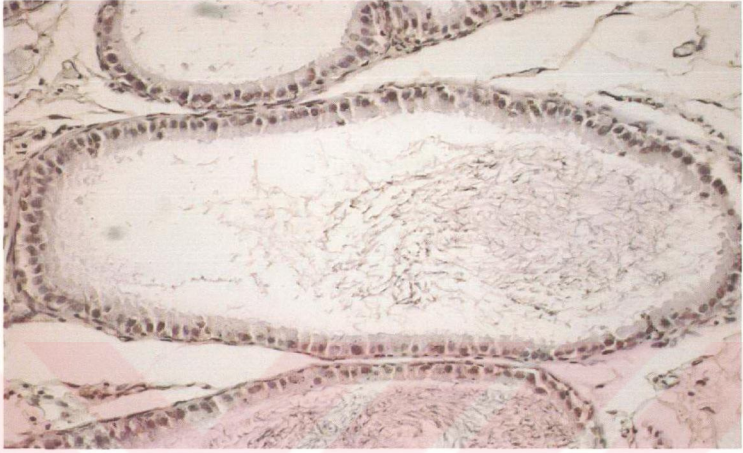


A



B

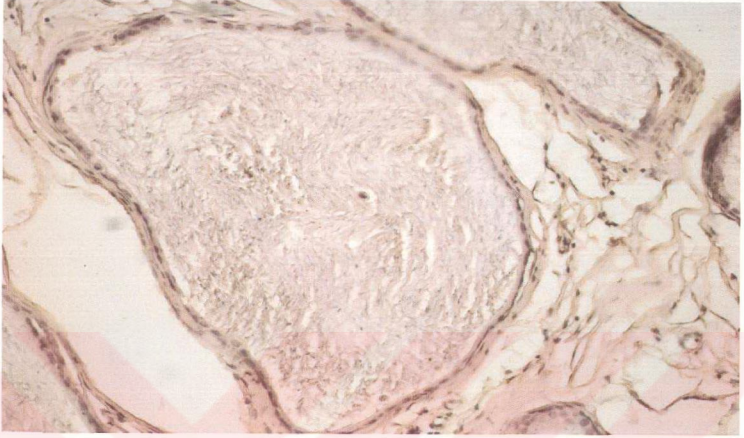
Şekil 9: Kaput epididim epitelinde apoptotik hücre görüntüsü. A. Normal kaput epididimise ait kesit. B. Apoptotik hücrenin gözlendiği kaput epididimise ait kesit görüntüsü (x200).



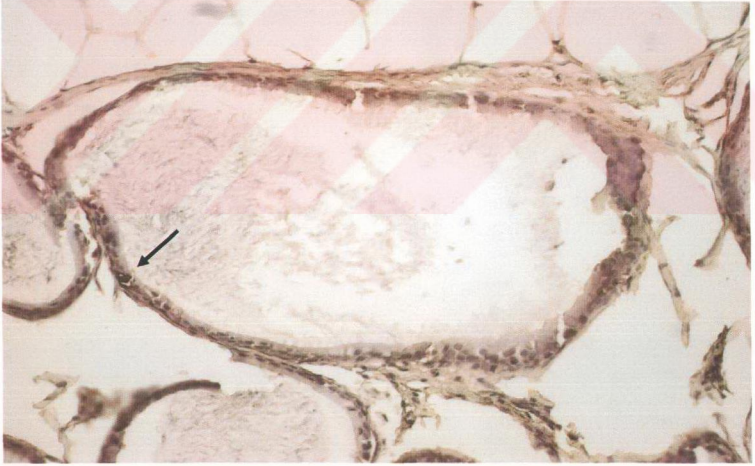
A



B Şekil10: Korpus epididim epitelinde apoptotik hücre görüntüsü. A. Normal korpus epididime ait kesit. B. Apoptotik hücrenin gözlendiği korpus epididime ait kesit görüntüsü (x200).



A



B

Şekil 11: Kauda epididim epitelinde apoptotik hücre görüntüsü. A. Normal kauda epididimise ait kesit. B. Apoptotik hücrenin gözleendiği kauda epididimise ait kesit görüntüsü (x200).

## 5. TARTIŞMA:

Varikosel erkek infertilitesinin en sık nedenlerinden birisidir. Bununla birlikte, varikoselli bazı olgular tedavi edilmedikleri halde fertil kalırken, diğerlerinin düzeltici cerrahiye rağmen neden fertilitate sağlayamadıkları merak konusu olmuştur. Dolayısıyla, infertilitenin en sık nedeni olarak gösterilen varikoselin etiyojisi ve patofizyolojisi ile ilgili tanımlanmış olan mekanizmaların hiçbiri tek başına varikoselin neden infertiliteye sebep olduğunu açıklayamamaktadır (19, 48, 52).

Varikoselli kalınan sürenin fertilitateyi nasıl ve ne kadar etkilediği insanlarda etik nedenlerden dolayı araştırılmamaktadır. Erişkin devrede ortaya çıkan varikoselin fertilizasyonu hangi oranda etkileyeceği de kesin olarak bilinmemektedir.

Günümüze kadar varikosel ile ilgili çalışmaların çoğu testise yönelmiştir. Çoğunda testis volümü ve histolojik parametreler ele alınmıştır. Epididim volümü ve histolojisine ait veriler yetersiz kalmıştır. Skrotal yapı içinde testisle endokrin ve ekzokrin bağlantıları olan epididimin başta ısı artışı olmak üzere patofizyolojide suçlanan faktörlerden etkilenmesi kaçınılmazdır. Bir deneysel varikosel modelinde testisle birlikte her iki epididimde de ısı artışı olduğu gözlenmiştir (74).

Fertilitate fizyolojisinde önemli rolü olan epididimin esas volümünü fonksiyonel tübül ve lüminal sıvı oluşturmaktadır. Literatürde varikosel ve epididim ağırlığı ilişkisine yönelik veri mevcut değildir. Deneysel sol varikoselin erişkin ratlarda her iki testiküler kan akımında ve intraskrotal ısıda artış yaparak testiküler histolojiyi bozduğu ve testis ağırlığını azalttığı gösterilmiştir (68). Liphshultz ve Corriere, varikoselli erişkin erkeklerin her iki testis volümünü varikoselsiz erkeklerinkine göre daha küçük bulmuşlardır (46). Aşçı ve arkadaşları erişkin deneysel varikosel modelinde testis volümünde iki taraflı azalma olduğunu saptamıştır (5).

Epididim ağırlığına yönelik elde ettiğimiz bulgular konu edilen çalışmalardaki testis volümü sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda varikosel gruplarının epididim ağırlıkları kontrol ve sham grubuna göre düşük bulundu (Tablo I). Ayrıca varikosel grubunda ikinci ayda sol epididim ağırlığı sağ epididimden düşüktü. İkinci ayda sol epididim ağırlığının sağa göre anlamlı düşük bulunması varikoselin zamana bağlı

olumsuz etkisini gösterebilir. Epididim volümü, ölçüm kısıtlılığı olsa da olguların fertilité ve androlojik değerlendirmeleri için tıpkı testis gibi önem kazanabilir.

Epididimde meydana gelen değişiklikler, varikoselin neden olduğu infertilitede çok önemli açıklayıcı bulgular verebilir. Önceki deneysel varikosel çalışmalarında Turner ve arkadaşları varikoselin birinci ayında epididimal  $Na^+$  ve  $K^+$  konsantrasyonlarının ve kan epididim bariyerinin değişmediğini (69), Hurt ve arkadaşları kauda epididimdeki sperm konsantrasyonu ve hareketliliğın azaldığını (32), Caflish ve arkadaşları epididimal sıvının asitleştiğini göstermişlerdir (9). Wang ve arkadaşları ise erişkin deneysel varikoselinde epididimal epitellerin mikrovilluslarında hasar ve seyreklik tespit etmişlerdir (74). Bu değişiklikler epididimin direk etkilenmesi sonucu olabileceği gibi epididime taşınan semininifer tübül sıvısındaki değişiklik sonucu da meydana gelebilir.

Varikoselin epididim tübül çapı üzerine etkisi ilk kez Zhang ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. Adölesan rat varikosel modelinde epididimal tübül çaplarında azalma ve epididimal interstisyel alanda belirgin artış olduğu gösterilmiştir. Birinci ay sağ ve sol kaput ile sol kauda segmentinde, ikinci ay ise tüm segmentlerde kontrollere göre tübül çapının azaldığını göstermişlerdir. Ancak her iki ayda da sağ ve sol arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (83).

Adölesan ratlarda yapılan bu çalışma ile bizim erişkin ratlarda epididim tübül çapına ait elde ettiğimiz bulgular benzerlik göstermektedir. Biz birinci ay varikoselli ratların korpus ve kauda tübül çapı değerlerini, ikinci ay varikoselli ratların ise kaput, korpus ve kauda tübül çapı değerlerini sham ve kontrol gruplarına göre anlamlı düşük bulduk. Çalışmamızda varikosel oluşturulan ratlarda birinci ayda kaput değerlerinde etkilenme olmaması ve ikinci ayda kaput çaplarının düşük bulunması, varikoselli kalınan sürenin uzunluğuyla açıklanabilir. Alınan patolojik kesitlere bağlı olarak, sham grubunda birinci ay sol kauda tübül çapı değerleri kontrol grubundan düşüktü. İkinci ay sağ kauda değerleri de sham grubunda kontrol grubundan yüksekti. Ancak diğer tüm segmentlerde zaman ve yön fark etmeksizin sham ve kontrol grubu arasında anlamlı fark yoktu. Bizim çalışmamızda varikosel grubu ratların ikinci ay sol kauda tübül çapı değerlerinin sağa göre anlamlı düşük bulunması, varikoselli kalınan sürenin artması ve varikoselin sol tarafta olması ile

açıklanabilir. Önceki çalışmalar varikoselin aynı taraf testiste daha fazla olmak üzere ilerleyici hasar oluşturduğunu göstermiştir.

Spermatogenez fizyolojisinde belirli bir oranda germ hücre apoptozisi meydana geldiği bilinmektedir. Deneysel çalışmalar varikoselin germ hücre apoptozisini artırdığını desteklemektedir (43). Literatürde hipospermatogenez oluşturan çeşitli patolojilerde genellikle apoptozisin var olduğu bildirilmiştir (33, 48). Şimşek ve arkadaşları, infertilite tedavisi için varikosektomi uyguladıkları hastalarda operasyon sırasında elde ettikleri testis biyopsi incelemelerinde germ hücre apoptozisinde anlamlı artış saptamışlardır (59). Öte yandan, varikoselde apoptozisin azaldığını bildiren literatürdeki tek çalışma Fujisawa ve arkadaşlarına aittir. Varikozel nedeni ile incelenen infertil erkeklerde germ hücrelerde apoptozisde azalma olması bu çalışmada çeşitli teknik nedenlerle açıklanmıştır (21).

Varikoselde epididim epitelinin esas hücrelerinde gelişebilecek apoptozis düzeyine ait literatür verisi yoktur. Ancak bazı deneysel patolojik durumlarda epididim epitelinde apoptozis artışını gösteren çalışmalar mevcuttur. Epididim epitelinde esas hücreler diğer hücre tiplerinden daha fazladır. Fonksiyon görebilmesi için efferent duktuslarla direk lümeneye gelen ve periferel dolaşım ile gelen androjenlere ihtiyaç vardır. Orşiektomi sonrası apoptotik hücrelerin başlangıç segmenti dahil kaput epididimiste daha sık olduğu (18), başka bir çalışmada efferent kanal ligasyonu ile başlangıç segmentinde apoptotik hücre artışı saptanmıştır (70). Dietilstilbesterole maruz kalan ratlarda kaput epididim epitelinde kauda segmentine kıyasla daha fazla apoptotik hücre saptanmıştır (53).

Çalışmamızda varikozel grubu ratlarda epididim epitelinde apoptozis artışı saptadık. Kaput epididim epitelinde apoptotik hücre sayısı diğer segmentlere göre daha fazla olup, yön farkı da yoktu. Kaput epididimis, fonksiyonu için diğer epididimal segmentlere göre daha fazla androjene ihtiyaç duyar. Ancak varikozel modelinde orşiektomide olduğu gibi kısa sürede ve şiddetli androjen düşüklüğü saptanması beklenemez. Başta ısı artışı olmak üzere diğer patofizyolojik etkenleri de gözardı etmemek gerekir. Bir deneysel çalışmada abdominal ısı artışının, kauda epididim epitelinde apoptozisi artırdığı rapor edilmiştir (36). Bu çalışmada epitelyal apoptozis artışının sadece kauda segmentinde gözlenmesi, çalışmamızda da başta kaput olmak üzere her üç segmentteki apoptozis artışı, varikozel modelinde ısı artışından başka diğer etkenlerin de katkısı olduğunu düşündürülebilir.

Normalde epididim epitelinde hücre döngüsü yavaştır. Bu nedenle apoptozis yok denecek kadar seyrek (20). Apoptozise uğrayan hücrelerin bir kısmı epididim lümenine atılırken bir kısmı da komşu hücrelerce fagosite edilerek tübülден uzaklaştırılmaktadır (70). Bu da çalışmamızda saptadığımız apoptotik hücre yoğunluğuna yansımaktadır. Yine de varikosel grubunda yüksek oranda saptadığımız apoptozis, fonksiyonel epididim epitelinin varikoselden olumsuz etkilendiğini gösterebilir. Ancak bu konunun ek çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Ayrıca çalışmamızda elde ettiğimiz patolojik bulguların çoğunu ratların karşı taraf epididimlerinde de saptamış olmamız, varikoselin bilateral testiküler hasar oluşturduğu düşüncesini desteklemektedir (68,56).

## 6. SONUÇLAR:

1) Deneysel sol varikosel epididim ağırlığını önemli oranda azaltmıştır. Varikoselli taraf epididim ağırlığındaki azalma varikoselli kalınan süreye bağlıdır.

2) Varikosel epididimal tübül çaplarını önemli oranda küçültmektedir. Varikoselli tarafta epididimal tübül çapları kaudada daha belirgin azalmaktadır.

3) Varikosel epididim epiteli esas hücrelerinde apoptozise yol açmaktadır. Kaput epididimdeki apoptozis, diğer segmentlere göre daha fazla bulundu. Aynı oranda karşı taraf epididim epiteli de etkilendi.

4) Varikoselli erişkin ratlarda epididimler iki taraflı ve ilerleyici olarak etkilenmektedir.

## 7. KAYNAKLAR:

- 1) Adams JM, Cory S: The bcl-2 protein family: Arbiters of cell survival. *Science* 1998; 281: 1322-1326.
- 2) Akbay E, Çayan S, Doruk E et al: The prevalence of varicocele and varicocele –related testicular atrophy in Turkish children and adolescents. *BJU int.* 2000; 86(4): 490-493.
- 3) Ando S, Giacchetto C, Beraldi E, et al. Testosterone and dihydrotestosterone seminal plazma levels in varicocele patients. *Andrologia* 1983; 15(4): 374-9.
- 4) Aşçı R: Epididim fizyolojisi. Kadioğlu A, Çayan S, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman MÖ, Usta MF, Kendirci M: Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi, Türk Androloji Derneği, 2004, 124-133.
- 5) Aşçı R, Sarıkaya S, Buyukalpelli R, Yılmaz AF, Yıldız S: The effect of experimental varicocele on testicular histology and fertility monorchic adult rats. *BJU int.* 1999 Mar. 83 (4); 493-7.
- 6) Ayaşoğlu E: Apoptozis. *T. Klin. Tıp Bilimleri* 2001, 21: 57-62.
- 7) Bargawi A, Caruso A, Meacham RB: Experimental varicocele induces testicular germ cell apoptosis in the rat. *J Urol.* 2004; 171: 501-3
- 8) Bellamy CO, Malcomson RD, Harrison DJ, Wyllie AH: Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. *Cancer Biology* 6: 3-16, 1995.
- 9) Cafilisch CR. Acidification of testicular and epididymal fluids in the rat after surgically-induced varicocele. *Int. J. Androl.* 1992; 15: 238-45.
- 10) Cayan S, Kadioğlu A, Orhan I, et al: Te effect of microsurgical varicocelectomy on serum follicle stimulating hormone, testosterone and free testosterone levels in infertile men with varicocele. *BJU Int.* 1999; 84(9): 1046-9.
- 11) Cayan S: Varikoselin cerrahi tedavisinde yüksek ligasyon ve mikrocerrahi yüksek inguinal varikosektomi sonuçlarının karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. İ. Ü. İstanbul Tıp Fak. Üroloji, 1997.
- 12) Cockett ATK, Takihara M. And Consentino MJ: The varicocele. *Fertil Steril* 1984; 41: 1-12.
- 13) Cohen JJ. Overview: Mechanisms of apoptosis. *Immunol Today* 1993; 14: 126-30.

- 14) Consentino MJ, Takihara H, Burhop JW and Cockett ATK: Regulation of rat caput epididimal contractility by prostaglandins. *J. Androl.* 5: 216-220, 1984.
- 15) Coolsaet BL: The varicocele syndrome: venography determining the optimal level for surgical management. *J. Urol.* 1980; 124(6): 833-9.
- 16) Cummings MC, Winterford CM, Walker NI: Apoptosis. *Am J. Surg Pathol.* 21: 88-101, 1997.
- 17) Dahl EV, Herrick JF: A vascular mechanism for maintaining testicular temperature by counter-current exchange. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1959;108: 697-705.
- 18) Fan X, Robaire B: Orchidectomy induces a wave of apoptotic cell death in the epididymis. *Endocrinology* 1998; 139: 2128-36.
- 19) Fenster H and McLoughlin M: Varicocele : Its Role in Male Infertility. In: Lipshultz LL and Howards SS (eds). *Infertility in The Male.* Churchill Livingstone, London, pp209-220, 1983.
- 20) Fretz PC, Sandlow JI: Varicocele: current concepts in pathophysiology, diagnosis and treatment. *Urol. Clin. N. Am.* 2002; 29: 921-937.
- 21) 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 J. Urol.*(1999) 17: 296-300
- 22) Fujisawa M, Yoshida S, Kojima K et al: Biochemical changes in testicular varicocele. *Arch Androl.* 1989; 22: 149-159.
- 23) Gilbert BR, Witkin SS, Goldstein M: Correlation of sperm bound immunoglobulins with impaired semen analysis in infertile men with varicocele. *Fertil Steril* 1989; 52(3): 469-73.
- 24) Gorelick JI, Goldstein M: Loss of fertility in men with varicocele. *Fertil Steril* 1993; 59(3): 613-6.
- 25) Gurdal M, Kirecci S, Pirincci N, Karaman I, Türkeri L: Correlation between duration of varicocele and apoptosis in the testicular tissue in an experimental model. *J Urol.* 2003; 169(Suppl. 4): 1564A
- 26) Hargreave TB: Varicocele – a clinical enigma. *Br. J. Urol.* 1993; 72(4): 401-408.

- 27) Hendry WF, Somerville IF, Hall RR et al: Investigation and treatment of the subfertile male. *Br. J. Urol* 1973; 45: 684-692.
- 28) Hinmann Jr F: The testes and adnexae: structure and function. In Hinmann F (eds): *Atlas of Urosurgical Anatomy*. Philadelphia, WB saunder Co., 1993, pp 484-491.
- 29) Hudson RW, Hayes KA, Crwford VA, et al: Seminal plazma testosterone and dihydrotestosterone levels in men with varicoceles. *Int. J. Androl*. 1983; 6(2): 135-42.
- 30) Hudson RW: The endocrinology of varicoceles. *Fertil Steril* 1988; 49(2): 199-208.
- 31) Hurley IR, Cooper GW, Napolitano B, Gilbert BR, Marmar JL, Benoff S: High testicular cadmium levels in varicocele associated infertility. *Androl*. 2000; 32: 190-1.
- 32) Hurt GS, Howards SS, Turner TT. Repair of experimental varicoceles in the rat: long term effects on the testicular blood flow and temperature and cauda epididymal sperm concentration and motility. *J. Androl*. 1986; 7: 271-6.
- 33) Hsueh AJW, Eisenhauer K, Chun S, Hsu S, Billig H: Gonadal Cell Apoptosis. *Recent Progress in Hormone Research*. 51: 432-457.
- 34) Hsu HS, Chang LS, Chen MT et al: Decreased blood flow and defective energy metabolism in the varicocele-bearing testicle of rats *Eur Urol*. 1994; 25: 71-75.
- 35) Ito H, Fuse H, Minagawa H et al: Internal spermatic vein prostaglandins in varicocele patients. *Fertil Steril* 37: 218-223, 1982.
- 36) Jara M, Esponda P, Carballada R: Abdominal temperature induces region specific p53 independent apoptozis in the cauda epididymis of the mouse. *Biol. Reprod*. 2002 Oct; 67(4): 1189-96.
- 37) Jones RC: To store or mature spermatozoa? The primary role of the epididymis. *Int J. Androl*. 1999; 22: 57-67.
- 38) Kadioğlu A, Köksal T. (1998): Skrotum ve kapsamı hastalıkları. 'Temel Üroloji' Anafarta K, Göğüş O, Arıkan N, Bedük Y. (Editörler). Güneş Kitabevi, Ankara. Sayfa 949-960.
- 39) Kilinc F, Guvel S, Kayaselcuk F, Aygun C, Egilmez T, Ozkardes H: p53 expression and apoptosis in varicocele in the rat testis. *J Urol*. 2004; 172: 2475-8.
- 40) Kirchhoff C, Osterhoff C, Pera I, Schroter S: Function of human epididymal proteins in sperm maturation. *Andrologia* 1998; 30: 225-32.

- 41) Knudson G, Ross L, Stuhldreher D, et al: Prevalence of sperm bound antibodies in infertile men with varicocele: the effect of varicocele ligation on antibody levels and semen response. *J. Urol.* 1994; 151(5): 1260-2.
- 42) Kroemer G, Reed JC: Mitochondrial control of cell death. *Nat. Med.* 2000; 6: 513-519.
- 43) Ku H J, Shim H B, Kim S W, Paick J S: The role of apoptosis in the pathogenesis of varicocele. *BJU Int.* 2005; 96: 1092-1096.
- 44) Kursh ED: What is the incidence of varicocele in a fertile population? *Fertil Steril* 1987; 48(3): 510-511.
- 45) Li LH, Wine RN, Chapin RE: 2-Methoxyacetic acid induced spermatocyte apoptosis in human and rat testis: an in vitro comparison. *J. Androl.* 1996; 17: 538-549.
- 46) Lipshult LI and Corriere JM: Progressive testicular atrophy in the varicocele patients. *J. Urol.* 117: 175-176, 1977.
- 47) Lue YH, Hikim AP, Swerdloff RS et al.: Single exposure to heat induces stage-specific germ cell apoptosis in rats: role of intratesticular testosterone on stage specificity. *Endocrinology* 1999; 140: 1709-17.
- 48) Marmar JL: Varicocele and male infertility: Part II. The pathophysiology of varicoceles in the light of current molecular and genetic information. *Hum. Rep. Update*, Vol.7, No.5 461-472, 2001.
- 49) Nagata S, Golstein P: The Fas death factor. *Science* 1995; 267: 1449-55.
- 50) Noske HD and Weidner W: Varicocele- A historical perspective. *World J. Urol* 1999; 17(3): 151-157.
- 51) Pinto KJ, Kroovand RL, Jarow JP: Varicocele related testicular atrophy and its predictive effect upon fertility. *J. Urol.* 1994; 152(2 pt 2): 788-790.
- 52) Pryor JL and Howard SS: Varicocele. *Urol. Clin. North Am.* 14(3): 499-523, 1987.
- 53) Qiu C-H, Ohe M, Koibuchi N and Matsuzaki S: Apoptosis in the epididymal epithelium of adult male golden hamster exposed to diethylstilbestrol. *J. Histochem. Cytochem* 52: 187-192, 2004.
- 54) Rajfer J, Turner TT and Rivera F: Inhibition of testicular testosterone biosynthesis following experimental varicocele in rats. *Biol. Reprod.* 1987; Abstract 36, p933-937.

- 55) Robaire B, Hermo L: Effluent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions and their regulation. In Knobil E, Neil JD(eds): *The Physiology of Reproduction*. New York, Raven Press, 1988, pp. 999-1080.
- 56) Saypol DC, Howards SS, Turner TT, et al: Influence of surgically induced varicocele on testicular blood flow, temperature and histology in adult rats and dogs. *J. Clin. Invest.* 1981; 68(1): 39-45.
- 57) Schimming BC, Vicentini CA: Ultrastructural features in the epididymis of the dog. *Anat. Histol. Embryol.* 2001; 30: 327-332.
- 58) Setchell BP, Brooks DE: Anatomy vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive tract. In Knobil E, Neill JD (eds): *The physiology of reproduction*. New York, Raven Press, 1988, pp753-836.
- 59) Simsek F, Turkeri L, Cevik I, Kamuran B, Akdas A: Role of apoptosis in testicular tissue damage caused by varicocele. *Arch Esp. Urol.* 51: 947-950.
- 60) Sirvent JJ, Bernat R, Navarro MA, et al.: Leydig cell in idiopathic varicocele. *Eur Urol.* 1990; 17(3): 257-61.
- 61) Steeno O, Koumans J and De Moor P: Adrenal cortical hormones in the spermatic vein of 95 patients with left varicocele. *Andrology* 1976; 8:101-104.
- 62) Sweeney TE, Rozum JS and Gore RW: Alteration of testicular microvascular pressure during venous pressure elevation. *Am. J. Physiol.* 1995; 269: 37-45.
- 63) Swerdloff RS, Walsh PC: Pituitary and gonadal hormones in patients with varicocele. *Fertil Steril*, 1975; 26(10): 1006-12.
- 64) Takihara H, Sakatoku J and Cockett AT: The pathophysiology of varicocele in male infertility. *Fertil Steril* 55(5): 861-868, 1991.
- 65) Tapanainen JS, Tilly JL, Vihko KK, Hsueh AJ: Hormonal control of apoptotic cell death in the testis: gonadotropins and androgens as testicular cell survival factors. *Mol. Endocrinol.* 1993; 7: 643-50.
- 66) Thorngerry NA: The caspase family of cystein proteases. *Br. Med. Bull.* 1997; 53: 478-90.
- 67) Turek PJ, Lipshultz LI: Immunologic infertility. *Urol. Clin. North Am.* 1994; 21: 447-68.

- 68) Turner TT and Lopez TJ: Testicular blood flow in peri-pubertal and older rats with unilateral experimental varicocele and investigation into the mechanism of the bilateral response to a unilateral lesion. *J. Urol.* 1990; 144: 1018-1021.
- 69) Turner TT, Jones CE, Roddy MS. Experimental varicocele does not affect the blood testis barrier, epididimal electrolyte concentrations, or testicular blood gas concentrations. *Biol. Reprod.* 1987; 36: 926-32.
- 70) Turner TT, Riley TA: p53 Independent, Region-Specific Epithelial Apoptosis is Induced in the Rat Epididymis by Deprivation of Luminal Factors. *Mol. Repr.* (1999) 53: 188-197.
- 71) Turner TT: The study of varicocele through the use of animal models. *Hum. Rep. Update, Vol.7, No.1, pp 78-84, 2001.*
- 72) Turner TT : Varicocele : stil an enigma. *J. Urol.* 129: 695-699, 1983.
- 73) Vendrely E, Dadoune JP: Quantative ultrastructural analysis of the principal cells in the human epididymis. *Reprod. Nutr. Dev.* 1988; 28: 1225-1235.
- 74) Wang R, Chang J-S, Zhou X-M and Chen D-Y: Varicocele in the rat a new experimental model. Effect on histology, ultrastructure and temperature of the testis and epididymis. *Urol. Res.* (1991) 19: 319-322.
- 75) WHO: The influence of varicocele on parameters of fertility in a large group of men presenting to infertility clinics. *Fertil Steril* 1992; 57: 1289-1293.
- 76) Weese DL, Peaster ML, Kyle KH et al: Stimulated reactive oxygen species generation by the spermatozoa of infertile men. *J. Urol.* 1993; 149: 64-67.
- 77) Witt MA, Lipshultz LI: Varicocele: a progresif or static lesion? *Urology* 1993; 42: 541-543.
- 78) Wyllie AH: Apoptosis: an overview. *Br. Med. Bull.* 1997; 53: 451-65.
- 79) Wyllie AH: Atidy death. *Odyssey* 1998; 4: 47-52.
- 80) Yeung CH, Weinbauer GF, Cooper TG: Effect of acute androgen withdrawal by GnRH antagonist on epididimal sperm motility and morphology in the cynomolgus monkey. *J. Androl.* 1999; 20: 72-9.
- 81) Younes AK. Low plasma testosterone in varicocele patients with impotence and male infertility. *Arc Androl* 2000; 45(3): 187-95.

- 82) Xia Q, Zhang XB, Zhng J: The apoptosis in damaged testicular tissue caused by varicocele. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2002; 8: 414-5.
- 83) Zhang QY, Qiu SD, Ma XN, Yu HM, Wu YW: Effect of experimental varicocele on structure and function of epididymis in adolescent rats. *Asian J. Androl.* 2003 Jun; 5: 108-112.
- 84) Zopfgen A, Priem F, Sudhoff F et al: Relationship between semen quality and the seminal plasma komponents carnitine, alpha glocosidase, fructose, citrate, and granülocyte elastase in infertile men compared with a normal population. *Human Reprod.* 2000; 15: 840-845.
- 85) Zorgniotti AW and Mc Leod J: Studies in the temperature, human semen quality and varicocele. *Fertil Steril* 1973; 24: 295-301.